



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS

CARRERA DE INGENIERÍA ZOOTÉCNICA

“VALORACIÓN DEL CONTENIDO SEMINAL DE DOS RAZAS OVINAS TROPICALES Y DOS TIPOS DE DILUYENTES PARA SU CONSERVACIÓN”

TRABAJO DE TITULACIÓN

TIPO: TRABAJO EXPERIMENTAL

Presentado para optar al grado académico de:

INGENIERA ZOOTECNISTA


AUTORA: SHIRLEY VANESSA CHUNATA MANTILLA

DIRECTOR: ING. HERMENEGILDO DÍAZ BERRONES

Riobamba – Ecuador
2019

©2019, Shirley Vanessa Chunata Mantilla

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

A handwritten signature in blue ink, reading "SHIRLEY CHUNATA", with a stylized flourish above the name.

Yo, SHIRLEY VANESSA CHUNATA MANTILLA, declaro que el presente trabajo de titulación es de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autora asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este trabajo de titulación. El patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 17 de Diciembre del 2019



Shirley Vanessa Chunata Mantilla

160091728-8

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS

CARRERA DE INGENIERÍA ZOOTÉCNICA

CERTIFICACIÓN

El Tribunal del trabajo de titulación certifica que: El trabajo de investigación: Tipo: Investigativo, **“VALORACIÓN DEL CONTENIDO SEMINAL DE DOS RAZAS OVINAS TROPICALES Y DOS TIPOS DE DILUYENTES PARA SU CONSERVACIÓN”**, de responsabilidad de la señorita: **SHIRLEY VANESSA CHUNATA MANTILLA**, ha sido minuciosamente revisado por los miembros del Tribunal del trabajo de titulación, quedando autorizada su presentación.

FIRMA

FECHA

Dr. Luis Condolo
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL



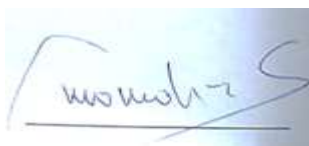
17 de Diciembre de 2019

Ing. Hermenegildo Díaz Berrones
DIRECTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN



17 de Diciembre de 2019

Ing. Edgar Hernández Cevallos
MIEMBRO DEL TRIBUNAL



17 de Diciembre de 2019

DEDICATORIA

Dedico este logro a mis padres Juanario Chunata y Alicia Mantilla que sin su apoyo moral, económico y sentimental no hubiera sido posible; al igual me la dedico a mí por todo el esfuerzo, paciencia, constancia y perseverancia que he tenido.

A mis hermanos Joffre, Bryan, Jordi y Mateo, que estuvieron allí dándome ánimos para que esto sea posible.

Como no dedicar este trabajo a mis mejores amigos Nataly, Maryuri y Oscar que siempre estuvieron ahí, apoyándome incondicionalmente, en las buenas, malas y supieron levantarme con cariño, más que mis amigos se han convertido en mi familia, gracias por todo.

A Erick Mancero, que por circunstancias de la vida no se encuentra presente conmigo yo sé que estas cuidándome desde el cielo, y sé que estas orgulloso de mí por una de las metas que he cumplido, te doy las gracias por haber luchado hasta el final y haber estado conmigo apoyándome mi campeón.

Shirley Vanessa Chunata Mantilla

AGRADECIMIENTO

Primeramente, agradezco Dios que me permitió seguir adelante a pesar de todas circunstancias que he cruzado para obtener mi título, a mis padres que siempre se mantuvieron a mi lado dándome apoyo y enseñándome a luchar por mis metas.

Al Laboratorio de Reproducción Animal e Inseminación Artificial que siempre estuvieron a disposición en la enseñanza y utilización de los equipos en especial a la ayuda del Tc. Andrés Mancheno y el Ing. Edgar Hernández.

A la Estación Experimental Pastaza dirigido por el Ing. Daniel Feijoo, en la misma que pude realizar el trabajo experimental, siempre mantuvieron las puertas abiertas para poder culminar mi trabajo, como no agradecer a dos personas importantes que aportaron en mi trabajo a los Srs. Luis Minta y Teodoro Chinlin trabajadores de la Estación Experimental Pastaza, los mismos estuvieron dispuestos apoyarme incondicionalmente en todo lo que necesité, su ayuda fue muy importante, me queda decir Dios le pague

Shirley Vanessa Chunata Mantilla

TABLA DE CONTENIDO

TABLA DE CONTENIDO	vii
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	xv
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xvi
ÍNDICE DE ANEXOS	xvii
RESUMEN.....	xviii
ABSTRACT.....	xx
INTRODUCCIÓN	1

CAPÍTULO I

1.	MARCO TEÓRICO	3
1.1.	Raza Black Belly	3
1.1.1.	Origen y ubicación.....	3
1.1.2.	Características fenotípicas	3
1.1.3.	Comportamiento productivo.....	3
1.2.	Pelibuey	4
1.2.1.	Origen y ubicación.....	4
1.2.2.	Características fenotípicas	5
1.2.3.	Características productivas	5
1.3.	Anatomía del sistema reproductor del macho	6
1.3.1.	Los testículos.....	6
1.3.1.1.	Células de Sertoli.....	6
1.3.1.2.	Células de Leydig	7
1.3.2.	El escroto	7
1.3.3.	Los epidídimos	8
1.3.4.	Los conductos deferentes	8
1.3.5.	Glándulas sexuales accesorias	8

1.3.6.	<i>Pene</i>	9
1.4.	Fisiología de la reproducción del carnero	9
1.4.1.	<i>Estacionalidad</i>	9
1.4.2.	<i>Control hormonal de la función testicular</i>	10
1.4.2.1.	<i>Control endocrino de las funciones sexuales</i>	10
1.4.3.	<i>Producción espermática (espermatogénesis)</i>	11
1.4.4.	<i>Cubrición y eyaculación</i>	13
1.4.5.	<i>El semen</i>	13
1.4.5.1.	<i>Características del semen del carnero</i>	14
1.4.5.2.	<i>Plasma seminal</i>	15
1.4.5.3.	<i>Espermatozoides</i>	16
1.4.5.3.1.	Procesos metabólicos de los espermatozoides	16
1.4.5.3.2.	Estructura de los espermatozoides	17
1.4.5.3.3.	Motilidad de los espermatozoides	18
1.4.5.3.4.	Factores que afectan la supervivencia de los espermatozoides	18
1.5.	Selección de reproductores	19
1.5.1.	<i>Selección del carnero</i>	20
1.5.2.	<i>Registros</i>	20
1.5.3.	<i>Examen de aptitud reproductiva</i>	21
1.5.4.	<i>Examen físico</i>	21
1.5.5.	<i>Examen de condición corporal</i>	21
1.5.6.	<i>Perímetro escrotal</i>	22
1.6.	Biometría testicular	23
1.6.1.	<i>Tamaño y peso testicular</i>	23
1.6.2.	<i>Circunferencia escrotal (CE)</i>	24
1.6.3.	<i>Examen de epidídimos</i>	24
1.7.	Vigorización de machos	25
1.8.	Métodos de colección de semen	26
1.8.1.	<i>Ventajas y desventajas del uso de los métodos de extracción de semen</i>	26

1.8.2.	<i>Colección de semen con vagina artificial</i>	27
1.8.2.1.	<i>Entrenamiento de machos para la colección del semen</i>	27
1.8.3.	<i>Colección de semen con electroeyaculador</i>	28
1.8.3.1.	<i>Ventajas y desventajas</i>	28
1.8.3.2.	<i>Procedimiento de extracción de semen por eyaculador</i>	29
1.9.	<i>Evaluación y valoración de semen ovino</i>	29
1.9.1.	<i>Valoración macroscópica</i>	29
1.9.1.1.	<i>Color y olor</i>	30
1.9.1.2.	<i>Volumen</i>	30
1.9.1.3.	<i>Potencial de hidrógeno (pH)</i>	30
1.9.2.	<i>Valoración microscópica</i>	30
1.9.2.1.	<i>Motilidad masal</i>	30
1.9.2.2.	<i>Motilidad individual</i>	31
1.9.2.3.	<i>Concentración espermática</i>	32
1.9.2.3.1.	<i>Recuento en cámara de Neubauer</i>	32
1.9.2.4.	<i>Células vivas-muertas</i>	34
1.9.2.5.	<i>Morfología</i>	34
1.10.	<i>Procesamiento del semen</i>	36
1.10.1.	<i>Diluyentes</i>	36
1.10.1.1.	<i>Andromed</i>	36
1.10.1.2.	<i>One step</i>	36
1.10.1.3.	<i>Yema de huevo</i>	37
1.10.1.4.	<i>Disolución</i>	37
1.10.2.	<i>Protocolo del procesamiento del semen</i>	37
1.10.3.	<i>Congelación del semen</i>	38
1.10.3.1.	<i>Daños que sufren los espermatozoides durante el proceso de congelación</i> ...	39
1.10.4.	<i>Conservación del semen</i>	39
1.10.5.	<i>Descongelamiento del semen</i>	39
1.10.6.	<i>Examinación post- descongelación</i>	40

1.11.	Valoración del espermatozoides congelado-descongelado.....	41
1.11.1.	Motilidad y viabilidad.....	41

CAPÍTULO II

2.	MARCO METODOLÓGICO	42
2.1.	Localización y duración del experimento.....	42
2.1.1.	Condiciones meteorológicas.....	42
2.2.	Unidades experimentales	42
2.3.	Materiales, equipos e instalaciones.....	43
2.3.1.	Materiales	43
2.3.2.	Equipos	44
2.3.3.	Medicamentos	44
2.3.4.	Instalaciones	44
2.4.	Tratamiento y diseño experimental.....	44
2.4.1.	Esquema del experimento	45
2.5.	Mediciones experimentales.....	46
2.5.1.	Semen fresco.....	46
2.5.2.	Post-descongelación.....	47
2.6.	Análisis estadísticos y pruebas de significancia	47
2.7.	Procedimiento experimental.....	48
2.7.1.	Selección de los carneros	48
2.7.2.	Preparación de machos.....	48
2.7.3.	Pruebas de extracción del semen con electroeyaculador.....	49
2.7.4.	Evaluación y procesamiento del semen.....	50
2.7.4.1.	Andromed	50
2.7.4.2.	One step	51
2.7.4.3.	Evaluación del semen	51
2.7.4.4.	Procesamiento de semen.....	52

2.7.5.	<i>Congelación</i>	53
2.7.6.	<i>Descongelación</i>	54
2.7.7.	<i>Costo por tratamiento</i>	54
2.8.	Metodología de evaluación	54
2.8.1.	Reproductor	54
2.8.1.1.	<i>Circunferencia escrotal</i>	54
2.8.1.2.	<i>Condición corporal</i>	55
2.8.2.	Semen fresco	55
2.8.2.1.	<i>Color</i>	55
2.8.2.2.	<i>Olor</i>	55
2.8.2.3.	<i>Potencial de hidrógeno (pH)</i>	55
2.8.2.4.	<i>Volumen, (ml)</i>	55
2.8.2.5.	<i>Motilidad masal, (%)</i>	56
2.8.2.6.	<i>Motilidad individual, (puntos)</i>	56
2.8.2.7.	<i>Concentración espermática, (spz/ml)</i>	56
2.8.2.8.	<i>Células vivas-muertas, (%)</i>	57
2.8.2.9.	<i>Morfología, (%)</i>	57
2.8.3.	Post-descongelación	58
2.8.3.1.	<i>Motilidad masal, (%)</i>	58
2.8.3.2.	<i>Motilidad individual, (puntos)</i>	58
2.8.3.3.	<i>Viabilidad espermática (%)</i>	59

CAPÍTULO III

3.	MARCO DE RESULTADOS, DISCUSIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADO	60
3.1.	Evaluación de las características macroscópicas del semen de los carneros de raza Pelibuey y Black Belly	60
3.1.1.	<i>Color</i>	60
3.1.2.	<i>Olor</i>	61

3.1.3.	<i>Potencial de hidrógeno, (pH)</i>	61
3.1.4.	<i>Volumen, (ml)</i>	62
3.2.	Evaluación de las características microscópicas del semen de los carneros de razas Pelibuey y Black Belly.	64
3.2.1.	<i>Motilidad masal, (%)</i>	64
3.2.2.	<i>Motilidad individual, (pts)</i>	65
3.2.3.	<i>Concentración espermática, spz/ml</i>	65
3.2.4.	<i>Células vivas-muertas, (%)</i>	66
3.2.5.	<i>Morfología, (%)</i>	67
3.3.	Evaluación de las características seminales post-descongelamiento de los carneros Pelibuey y Black Belly frente a la utilización de dos diluyentes comerciales	68
3.3.1.	<i>Motilidad masal, (%)</i>	68
a.	<i>De acuerdo a la raza (Factor A)</i>	68
b.	<i>De acuerdo a los diluyentes (Factor B)</i>	69
c.	<i>De acuerdo a la interacción (Factor Ax B)</i>	70
3.3.2.	<i>Motilidad individual, (pts)</i>	72
a.	<i>De acuerdo a la raza (Factor A)</i>	72
b.	<i>De acuerdo al diluyente (Factor B)</i>	72
c.	<i>De acuerdo a la interacción (Factor Ax B)</i>	72
3.3.3.	<i>Viabilidad espermática, (%)</i>	74
a.	<i>De acuerdo a la raza (Factor A)</i>	74
b.	<i>De acuerdo al diluyente (Factor B)</i>	74
c.	<i>De acuerdo a la interacción (Factor Ax B)</i>	74
3.4.	Costo tratamiento	76
	CONCLUSIONES	78
	RECOMENDACIONES	79
	BIBLIOGRAFÍA	
	ANEXOS	

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-1:	Características del eyaculado promedio para diferentes especies.	13
Tabla 2-1:	Características del semen ovino.	14
Tabla 3-1:	Componentes químicos del semen ovino.....	15
Tabla 4-1:	Escala de condición corporal.	22
Tabla 5-1:	Evaluación de aptitud reproductiva en carneros.....	23
Tabla 6-1:	Valoración de la motilidad masal.....	31
Tabla 7-1:	Escala de medición subjetiva de la motilidad individual progresiva.....	32
Tabla 8-1:	Protocolo del proceso de congelación de semen ovino.	38
Tabla 1-2:	Condiciones meteorológicas de la Estación Experimental Pastaza.	42
Tabla 2-2:	Diseño experimental.....	46
Tabla 3-2:	Esquema del ADEVA.....	47
Tabla 4-2:	Dilución 4:1 con el diluyente Andromed.....	50
Tabla 5-2:	Dilución 5:1 con el diluyente One Step.....	51
Tabla 1-3:	Evaluación seminal macroscópica de los eyaculados de carneros Pelibuey.	60
Tabla 2-3:	Evaluación seminal macroscópica de los eyaculados de carneros Black Belly.	60
Tabla 3-3:	Evaluación del volumen seminal de los carneros Pelibuey y Black Belly.....	62

Tabla 4-3:	Evaluación microscópica de los eyaculados pertenecientes a los carneros Pelibuey y Belly antes de ser sometidos a dilución para su posterior conservación.	64
Tabla 5-3:	Anormalidades encontradas en las muestras seminales.....	67
Tabla 6-3:	Evaluación de las características microscópicas post descongelamiento de las dosis seminales pertenecientes a los carneros Pelibuey y Black Belly, con respecto al factor A (razas).....	69
Tabla 7-3:	Evaluación de las características microscópicas post descongelamiento de las dosis seminales pertenecientes a los carneros Pelibuey y Black Belly, en el efecto de dos diluyentes comerciales (factor B).	70
Tabla 8-3:	Valoración post descongelamiento de las dosis seminales bajo el efecto de las razas (Pelibuey y Black Belly) y los diluyentes comerciales (Factores A x B).	71
Tabla 9-3:	Evaluación económica de los tratamientos con la utilización de diluyentes comerciales Andromed y One Step.....	77

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1-2:	Volumen seminal de las muestras del semen ovino de las razas Black Belly y Pelibuey.....	63
Gráfico 2-2:	Comportamiento de la Motilidad masal (%) post-descongelación para la interacción raza (Black Belly y Pelibuey) por diluyentes comerciales (Andromed y One step).....	71
Gráfico 3-3:	Comportamiento de la Motilidad individual (%) post-descongelación para la interacción raza (Black Belly y Pelibuey) por diluyentes comerciales (Andromed y One step).....	73
Gráfico 4-3:	Comportamiento de la Viabilidad espermática (%) post-descongelación para la interacción raza (Black Belly y Pelibuey) por diluyentes comerciales (Andromed y One step).....	75

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1-1:	Diagrama de la cuadrícula de la cámara de Neubauer.	33
Figura 2-1:	Alteraciones morfológicas de los espermatozoides.	35

ÍNDICE DE ANEXOS

- ANEXO 1.** MOTILIDAD MASAL % POST DESCONGELACIÓN EN COMPARACIÓN CON LOS DOS DILUYENTES COMERCIALES (ANDROMED Y ONE STEP) EN LA CONSERVACIÓN DEL SEMEN EN LA ESTACIÓN EXPERIMENTAL PASTAZA
- ANEXO 2.** MOTILIDAD INDIVIDUAL (PTS) POST DESCONGELACIÓN EN COMPARACIÓN CON LOS DOS DILUYENTES COMERCIALES (ANDROMED Y ONE STEP) EN LA CONSERVACIÓN DEL SEMEN EN LA ESTACIÓN EXPERIMENTAL PASTAZA.
- ANEXO 3.** VIABILIDAD ESPERMÁTICA (%) POST DESCONGELACIÓN EN COMPARACIÓN CON LOS DOS DILUYENTES COMERCIALES (ANDROMED Y ONE STEP) EN LA CONSERVACIÓN DEL SEMEN EN LA ESTACIÓN EXPERIMENTAL PASTAZA.

RESUMEN

Valorando el contenido seminal de dos razas ovinas tropicales y dos tipos de diluyentes para su conservación en la Estación Experimental Pastaza de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, utilizamos dos ovinos machos adultos de la raza Pelibuey y Black Belly con una edad promedio de 31 meses y un peso aproximado de 73 a 75 kg, las características del semen se evaluaron en dos momentos, antes y después del proceso de conservación. El semen fresco se evaluó utilizando estadística descriptiva para las variables cualitativas y para las variables cuantitativas la prueba t de student, en el segundo momento en semen congelado, aplicándose un diseño completamente al azar con arreglo combinatorio, en donde el Factor A es la raza (A 1: Pelibuey y A 2: Black Belly) y el Factor B los diluyentes (B 1: Andromed y B 2: One step), con 4 repeticiones por tratamiento, tomándose como tamaño de la unidad experimental (TUE) 1 extracción. Valorándose los resultados experimentales en el contenido seminal fresco, las variables (color, olor, ph, motilidad masal, motilidad individual, concentración espermática, células vivas-muertas y morfología), no encontrándose diferencias estadísticas ($P > 0,05$); a diferencia de la variable volumen, encontrándose diferencias significativas ($P < 0,05$). Y al evaluarse el contenido seminal a los 15 días post-descongelación para el Factor A (Raza), no hallándose diferencias estadísticas ($P > 0,05$) para motilidad masal y viabilidad espermática, pero si hallándose diferencias estadísticas para la variable motilidad individual ($P < 0,05$), presentándose en la raza Black Belly 1,38 pts y en Pelibuey con 1,17 pts, demostrándose que el contenido seminal del macho Black Belly es más resistente a la congelación, para el Factor B (Diluyentes,) no encontrándose diferencias estadísticas en ninguna variable, en cuanto a la interacción A x B los tratamientos A1B1; A1B2; A2B1; A2B2, no evidenciándose diferencias estadísticas ($P > 0,05$), pero si hallándose diferencias numéricas, teniendo al mejor tratamiento A2B2. Concluimos que las características macroscópicas y microscópicas en semen fresco son apropiadas para cada raza encontrándose dentro de los rangos establecidos, por otro lado, en post-descongelación el que presentó mayor resistencia a la congelación es el macho Black Belly. Recomendando investigaciones posteriores de biotecnologías reproductivas en ambas razas que tras su evaluación estas pudieran ser aprovechadas en programas de mejoramiento genético.

Palabras Clave:

<Contenido Seminal>, <Ovino (Black Belly)>, <Ovino (Pelibuey)>, <Razas Ovinas>, <Diluyente (Andromed)>, <Diluyente (One Step)>, <Variables Macroscópicas>, <Variables Microscópicas>, <Estación Experimental Pastaza>, <Carrera De Ingeniería Zootécnica>.



ABSTRACT

Assessing the seminal content of two tropical sheep breeds and two types of diluents for conservation in the Pastaza Experimental Station of the Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Researchers use two adult male sheep of the Polibuey and Black Belly breed with an average age of 31 months and an approximate weight of 73 to 75 kg, semen characteristics were evaluated at two times, before and after the conservation process. Fresh semen was evaluated using descriptive statistics for the qualitative variables and the quantitative variables the student's t-test, in the second moment in frozen semen, applying a completely randomized design with combinatorial arrangement, where Factor A is the race (A1: Polibuey and A2: Black Belly) and Factor B diluents (B1: Andromed and B2: One step). with 4 repetitions per treatment, taking the size of the experimental unit (SEU) 1 extraction. Valuing experimental results in fresh seminal content, the variables (colour, smell, ph, mass mortality, individual motility, sperm concentration, living-dead cells and morphology), no statistical differences being found ($P > 0.05$): unlike of the variable volume, finding significant differences ($P < 0.05$). And when assessing the seminal content at 15 days post - defrosting for Factor A (Race), no statistical differences ($P > 0.05$) were found for mass motility and sperm viability. but if statistical differences were found for the individual motility variable ($P < 0.05$). appearing in the race Black Belly 1.38 pts and in Pelibuey with 1.17 pts. proving that the seminal content of the male Black Belly is more resistant to freezing, for Factor B1 (Diluents) no statistical differences are found in any variable, in terms of the interaction A x B the A1B1 treatments; A1B2; A2B1; A2B2, not showing statistical differences ($P > 0.05$). but if finding numerical differences, having the best treatment A2B2. To conclude the macroscopic and microscopic characteristics in fresh semen were appropriate for each race, being within the established ranges, on the other hand, in post-defrosting, the one that presented greater resistance to freezing is the male Black Belly. Recommending subsequent research on reproductive biotechnologies in both races that, after their evaluation, could be used in genetic improvement programs.

Keywords:

<Seminal Content>, <Ovine (Black Belly)>,<Ovine (Pelibuey)>, <Ovine Races>, <Diluyente (Andromed)>, <Diluyente (One Step)>,<Macroscopic Variables>, <Variables Microscopics>, <Pastaza Experiment Station>, <Zootechnical Engineering Career>.



INTRODUCCIÓN

La población nacional de ovinos es aproximadamente de 356,000 cabezas (INEC, 2018) compuesto por el 95,78% en la región Sierra, 3,73% en la región Costa y el 0,45% en región Amazónica, cabe destacar el descenso que está sufriendo la producción ovina en la región Amazónica, según Censo Nacional Agropecuario en el año 2000 existía 8,334 cabezas, en la actualidad según (INEC, 2018) registra datos de 1,598 cabezas.

Existe una pérdida significativa de esta especie, que se caracteriza por el aporte de pelo y principalmente carne, es importante mencionar que la población demográfica permanece creciendo rápidamente por lo cual existe mayor demanda de alimento; como consecuencia, la producción animal necesita crecer dramáticamente.

Como alternativa los ovinos por sus características innatas como la adaptabilidad, rusticidad y sobriedad son capaces de producir a pesar de estar expuestos a condiciones deplorables, por lo cual, la producción ovina podría ser una de las soluciones a esta problemática alimentaria.

En los últimos años la producción ovina ha venido dando un giro de desarrollo en el ámbito nutritivo y sanitario obviándose de uno de los pilares fundamentales que es la reproducción animal, ya sea esto por la poca o nula introducción de técnicas reproductivas aplicadas en esta especie que dificultan el incrementar y potencializar esta producción ganadera.

Existe un desconocimiento del uso y aplicación de biotecnologías reproductivas en esta especie, la cual ha decrecido circunstancialmente debido al bajo aporte genético, trayendo como consecuencia la pérdida de recursos zoo genéticos, es por ello que los productores se ven obligados a diseñar estrategias de manejo destinadas a su mejoramiento genético.

Por tal razón, la aplicación de nuevas biotecnologías reproductivas como son la Inseminación Artificial (IA), favorece de sobremanera el accionar diario del pequeño productor, más aún cuando se trata de incrementar la productividad, la aplicación de esta tecnología tiene como único propósito de ayudar a reducir costos de producción con la finalidad de obtener productos de calidad, incrementar ingresos económicos en los hogares y así mejorar la calidad de vida de la población.

Con relación a lo expuesto, es necesario el aporte constante de investigaciones en el ámbito reproductivo, ya que las mismas no presentan mayor desarrollo en comparación con otras especies de abasto, por lo cual la inclusión de técnicas como conservación del material genético, tiene como finalidad mantener en congelación el contenido seminal de los mejores reproductores de cada raza o propósito zootécnico, por uno, dos o muchos años, dándole así un gran paso al desarrollo genético ovino en el Ecuador.

Por tal razón la presente investigación busca valorar en contenido espermático en este caso de dos razas de ovinos tropicales, como son Pelibuey y Black Belly que se comparan con dos diluyentes comerciales, siendo el primer diluyente Andromed y el segundo diluyente One Step.

Con la finalidad de determinar cuál de estos diluyentes proveen el medio adecuado para la sobrevivencia de los espermatozoides, y si la raza influye en la calidad seminal, para ello se verifica tras la evaluación antes de la congelación con un examen de calidad seminal que incluye motilidad, concentración espermática, morfología y viabilidad, al igual se evaluará al momento de post descongelación a los 15 días de haber sido congelada.

Por lo aludido anteriormente, nos hemos planteado los siguientes objetivos.

- Valorar el contenido seminal de dos razas ovinas tropicales (Black Belly y Pelibuey).
- Evaluar dos tipos de diluyentes (Andromed y One Step) para congelación en cada raza.
- Determinar el costo de cada uno de los tratamientos.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1. Raza Black Belly

1.1.1. Origen y ubicación

Esta raza también es conocida como oveja de Barbados o Panza Negra. Es originaria de África, pero tiene más de 300 años en la isla de Barbados, desde dónde se ha distribuido a las islas del Caribe y a Sudamérica, Centro América, Estados Unidos y México. En Ecuador, se encuentran en áreas tropicales de las provincias de la región Oriental y de la Costa (Feijoo,2018, p.14).

1.1.2. Características fenotípicas

Son animales de talla media, cuerpo estrecho, pesan de 48 a 70 kg y las ovejas entre los 32 a 45 kg. El pelo es de color rojizo oscuro o claro, el vientre es negro al igual que unas franjas que se proyectan sobre la parte interior de la patas y otra que va del encuentro sobre el cuello hasta la quijada, en la cabeza tienen dos franjas que corren casi paralelas a cada ojo, también existen animales completamente negros (Feijoo, 2018, p.15).

Son acornes tanto machos como hembras, aunque algunas ocasiones se pueden manifestar unos cuernos pequeños, las orejas son de tamaño intermedio, no pendulosa pero si proyectada horizontalmente al eje de la cabeza. Los machos presentan a lo largo del cuello y pecho un pelo largo característico, de 10 a 15 cm (Feijoo, 2018, p.15).

1.1.3. Comportamiento productivo

Su comportamiento productivo es uno de los aspectos más importantes de la raza, por lo cual se ha hecho una raza muy atractiva, ya que su alta tasa de reproductibilidad la sitúa dentro de las

más prolíficas. Su estación de apareamiento es larga, lo cual permite mas de un empadre al año. Su periodicidad permite que puedan parir entre los 12 y 15 meses, con porcentajes de partos del 96 al 100%. Su prolificidad es mayor a la de las otras razas de pelo (80-90%) (Feijoo, 2018, p. 15).

Las características reproductivas de los Blackbelly son similares a las del Pelibuey. Se adapta bien al trópico seco y son animales generalmente mansos y dóciles, aunque, en ocasiones su temperamento es nervioso. El peso al nacimiento osciló alrededor de 2,5 kg y las ganancias de peso antes del destete pueden alcanzar los 200 gramos/día después de esto, las ganancias son más variables de 30 a 200 gramos/día (Feijoo, 2018, p. 15).

Los parámetros tanto reproductivos como productivos de esta especie son sumamente importantes estos aportan con el 50% de material genético contribuyendo al crecimiento del rebaño. La madurez sexual del macho es precoz, pues con buena alimentación pueden entrar en ciclo a los 5 meses, al cual se asume que tiene una vida útil hasta 8 años.

Algunos autores al evaluar la CE en razas Blackbelly y Pelibuey, se encontraron valores por encima de los 25 cm a los seis meses de edad (Olguín et al., 2016 citado por Espitia et al., 2018, p. 74).

1.2. Pelibuey

1.2.1. Origen y ubicación

Su origen es al oeste de África es una raza de pelo que tiene el cuerpo pequeño y una estructura ósea bien definida introducida al caribe (Cuba) por lo colonos españoles. Desarrollada en México y distribuida por toda América tropical (Rúa, 2015, p. 25).

Originaria de África, concretamente de las Repúblicas de Angola y Somalia, traída a América en los siglos XVII y XVIII durante el auge del comercio de esclavos. Al igual que otras razas del trópico americano se aclimataron en México y Cuba, considerándose una de las razas más prolíficas y adaptadas a nuestro medio; al igual que otras razas de pelo se ubican en un ambiente tropical, en el Ecuador se encuentran tanto en la región Amazónica como la región Costa (Sáenz, 2007, p. 13).

1.2.2. *Características fenotípicas*

En esta raza presenta una gran variación en el color de pelo, del blanco al rojo, en varios tonos, tostado, rojo, bato y pinto, se reconocen tres colores, el rojo canelo, el blanco y el pinto y los tres se aceptan en los libros de registro de genealogía. Son animales acornes, es decir, no presenta cuernos esto es en ambos sexos, el perfil es recto a ligeramente convexo, las orejas cortas en posición horizontal, el pelo que cubre el cuerpo es generalmente corto y grueso, en los machos, en el cuello y pecho es más largo, en forma parecida al Black Belly (Feijoo, 2018, p. 16).

Los Pelibuey son ovinos de talla mediana, con cuerpos más anchos y menos angulosos que en el Black Belly, los pesos en los machos varían de los 40 a 80 kg y en las hembras de 35 a 60 kg. En otros países existen animales mejorados que superan estos pesos (Feijoo, 2018, p. 16)

1.2.3. *Características productivas*

El comportamiento reproductivo es bueno, con tamaños de camada de 1,2 a 1,4; la estación de apareamiento es larga, correspondiendo los meses de febrero a abril a los de más baja actividad reproductiva lo que permite la posibilidad de 3 partos en dos años, son animales precoces. El peso al nacer se encuentra alrededor de los 2,5 kg y se reportan ganancias hasta el destete de 200 gramos/día, en pastoreo, con pesos al destete en machos de 15,0 kg (Feijoo, 2018, p. 16).

Las hembras adultas alcanzan pesos de 35 a 50 kg, mientras que los machos alcanzan pesos de 40 a 70 kg; las crías alcanzan pesos al destete de 12 a 15 kg, a los 60-80 días de edad, Las ovejas Pelibuey son muy fértiles o fecundas, se alcanzan tasas de prolificidad de 30 al 60% y porcentaje de gestacion del 85 al 95%, el comportamiento reproductivo de la oveja presenta cierta estacionalidad, con descensos en la actividad reproductiva (manifestaciones de estro, tasa de ovulación y concepción), durante los meses de febrero a mayo (Feijoo, 2018, p. 16)

Es importante tomar en cuenta otros parámetros reproductivos y productivos específicamente en el macho Pelibuey como son: su madurez sexual es mediana a tardía 6-12 meses con 20-25 kg de peso en relacion a otras razas de pelo (Avilès, 2018, p. 15).

La edad apta para que el macho empiece a servir varia desde 10-12 meses va a depender de factores externos, tiene una vida útil en el rebaño que va desde 7-8 años, es importante conocer el tamaño de los testiculos es decir la circunferencia escrotal en etapa adulto esta no debe ser menor de 30 cm.

1.3. Anatomía del sistema reproductor del macho

El sistema reproductor del carnero se compone de los testículos, el escroto, los epidídimos, los conductos deferentes, las glándulas sexuales accesorias y el pene.

1.3.1. Los testículos

Los testículos son gónadas masculinas u órganos sexuales primarios. Están encargados de realizar dos funciones:

- La producción de gametos masculinos (espermatozoides).
- La producción de hormonas sexuales masculinas (andrógenos).

Dos funciones íntimamente relacionadas ya que la producción de espermatozoides depende de la producción de andrógenos. Los testículos del carnero son muy grandes y llegan a pesar entre 200 y 300 gramos cada uno, en el adulto. El tamaño de los testículos varía con la estación, alcanzando el máximo en la mitad de la estación reproductora. (Duran et al., 2008, p. 245)

1.3.1.1. Células de Sertoli

Las células de sertoli tienen una incidencia directa sobre las células de Leydig que también se ubican en los testículos y son las encargadas de segregar testosterona. Las funciones de las células de sertoli son regular el desarrollo de las células de Leydig y su función temprana para que la segregación de testosterona no se vea afectada (Fernández, 2018).

Esta hormona masculina se segrega con el objetivo de diferenciar los conductos embrionarios de Wolff hacia órganos masculinos, por lo que su incidencia en la masculinidad es evidente. Otra de las funciones de la célula de sertoli es la de adoptar el papel de fagocitos para consumir el citoplasma residual durante el proceso de producción de espermatozoides (espermatogénesis) (Fernández, 2018).

Además, las células Sertoli también ejercen una función secretora al intervenir en procesos de secreción de diferentes hormonas que pasamos a describir a continuación:

- ABP o Proteína fijadora de Andrógenos: esta hormona incrementa la concentración de testosterona, lo que ayuda a estimular la producción de espermatozoides.
- Estradiol: las células de Sertoli convierten la testosterona en Estradiol para estimular la producción directa de espermatozoides.
- Factor neurotrófico de células gliales o GDNF: este agente garantiza la renovación de células madre gracias a la promoción de espermatogonias diferenciadas.
- Hormona antimülleriana: esta hormona es secretada en el período fetal gracias a las células de Sertoli. (Fernández, 2018, p.8).

1.3.1.2. *Células de Leydig*

El desarrollo y la maduración de las células de Leydig son procesos dinámicos y que incluyen la interacción entre hormona población fetal de estas células constituye un elemento fundamental en la diferenciación masculina, ya que ha sido demostrado que la disfunción o la ausencia de estas células, puede producir una incompleta masculinización (Pardo, 2017. P. 12).

Los lobulillos testiculares están constituidos por los túbulos seminíferos, en los cuales tiene lugar el proceso de espermatogénesis. Entre los túbulos seminíferos, encontramos tejido conectivo el cual incluye a las células de Leydig, encargadas de la síntesis de testosterona, vasos sanguíneos, leucocitos y fibroblastos (Pardo, 2017. P. 12)

1.3.2. *El escroto*

El escroto es el saco, o bolsa donde se alojan los testículos. Posee una estrechez, o cuello, distinguible, por encima de los testículos y está provisto de un septum que separa las mitades derecha e izquierda. (Duran et al., 2008, p.246)

El escroto no solo soporta y protege a los testículos, sino que también juega un papel importante en la regulación de la temperatura. La producción de espermatozoides en el testículo normalmente ocurre a 4-7 °C por debajo de la temperatura corporal. Los machos con testículos no totalmente

descendidos al escroto, se encuentran a temperatura más próxima a la del cuerpo, por lo general son machos estériles (Durán et al., 2008, p. 247)

1.3.3. *Los epidídimos*

Los epidídimos tienen una forma alargada y están íntimamente en contacto con los testículos. El epidídimo es el encargado de funciones tan vitales como el transporte, maduración y almacenaje de espermatozoides. Cuando los espermatozoides se liberan de los túbulos seminíferos no son ni fértiles ni maduros. A su paso el epidídimo adquiere la motilidad necesaria y la capacidad de fertilizar el ovocito (Duran et al., 2008, p.247).

En la cola del epidídimo se almacenan gran cantidad de espermatozoides (unos 20 a 40 mil millones en el carnero) que son expulsados por las contracciones de la pared del conducto epididimario (Duran et al., 2008, p. 248).

1.3.4. *Los conductos deferentes*

El conducto deferente transporta los espermatozoides desde la cola del epidídimo hasta la uretra (conducto central del pene), sirven como almacenaje de espermatozoide (Duran et al., 2008, p.248).

1.3.5. *Glándulas sexuales accesorias*

Son glándulas sexuales secundarias, estas producen líquidos que se vierten en el tracto masculino y se mezclan con los espermatozoides formando así el semen. El grupo de glándulas sexuales accesorias comprende dos glándulas vesiculares, próstata y dos glándulas bulbouretrales. En los machos ovinos las glándulas de mayor tamaño son las vesiculares, localizadas cerca de la unión de los conductos deferentes y la uretra. (Duran et al., 2008, p. 249)

En el tejido conectivo de las glándulas se encuentran los músculos responsables de la eyacuación del líquido vesicular cuando se contrae. Las glándulas bulbouretrales son esféricas y compactas, se localizan por encima de la uretra, cerca de su salida y la cavidad pélvica; los conductos secretores liberan el líquido bulbouretral durante los periodos de excitación sexual. (Duran et al., 2008, p.249)

1.3.6. *Pene*

El pene tiene dos funciones la primera es la deposición del semen en el aparato genital de la hembra y la segunda la expulsión de la orina. Tanto el semen como la orina se vierten a través de la uretra. El pene se pone rígido y aumenta de tamaño con la excitación sexual. El pene posee una curvatura, en forma de S, llamada flexura sigmoidea, que puede extenderse (hasta unos 30cm) durante la copula (Duran et al., 2008, p.249).

La extremidad libre del pene está alojada en una invaginación de la piel llamada prepucio, o vaina. En el prepucio se pueden acumular bacterias por lo cual antes de recoger el semen se debe lavar con cuidado. También es aconsejable cortar los pelos largos del prepucio (Duran et al., 2008, p.250).

1.4. Fisiología de la reproducción del carnero

1.4.1. *Estacionalidad*

En la mayoría de las razas, los carneros son estacionales y muestran mayor líbido durante los días cortos, coincidiendo con el reinicio de la actividad ovárica en la hembra. Este ritmo reproductivo está controlado por el fotoperíodo (Orihuela, 2014).

La retina del ojo capta la luz del día y transmite la información a través del nervio óptico hacia el núcleo supraquiasmático, al núcleo paraventricular y a la médula espinal, de donde emergen nervios hasta la glándula pineal, donde el estímulo nervioso se convierte en un estímulo hormonal, secretando melatonina durante las horas de oscuridad (Orihuela, 2014).

La melatonina en el carnero (reproductores durante días cortos) es capaz de estimular la liberación de la hormona liberadora de gonadotropinas (Gn-RH) en el hipotálamo anterior, promoviendo la secreción de gonadotropinas y la actividad gonadal, (Orihuela, 2014).

En el aparato reproductor masculino de otras especies, se han localizado receptores de melatonina, por lo que se ha propuesto que esta hormona es capaz de modular la morfología de los túbulos seminíferos, las células de Leydig y con ello la secreción de testosterona. También existen receptores de melatonina en el epidídimo, próstata y sobre los mismos espermatozoides (Orihuela, 2014).

Las hormonas tiroideas también son un componente importante en la estacionalidad. La extirpación de la glándula tiroides termina con los patrones estacionales en la actividad reproductiva (Orihuela, 2014).

Las razas de ovinos originarias de climas templados en latitudes medias o altas son animales estacionales. Sin embargo, en cuanto al efecto del fotoperiodo en los carneros de pelo los resultados en la literatura son variables. En ambientes tropicales y subtropicales algunas razas pueden verse muy poco o no afectadas por las variaciones estacionales en las horas luz o temperatura, pero sí por los cambios en la disposición de alimento durante el año, (Orihuela, 2014).

1.4.2. *Control hormonal de la función testicular*

Las funciones de los testículos, fundamentalmente producción de espermatozoides y andrógenos, están reguladas por hormonas específicas. Estas hormonas, llamadas gonadotropinas, se liberan al torrente circulatorio desde la hipófisis, localizada en la base del encéfalo. Sin el aporte de las gonadotropinas la producción de espermatozoides y andrógenos cesa totalmente (Duran et al, 2008, p.252).

La producción y liberación de gonadotropinas hipofisarias están, a su vez, controladas por otros centros cerebrales que responden a estímulos ambientales. Existen dos gonadotropinas, hormona luteinizante (LH) y la hormona de folículo estimulante (FSH). La hormona luteinizante actúa sobre las células de Leydig de los testículos y estimula la producción de andrógenos, que, a su vez, actúa sobre los túbulos seminíferos para promover la espermatogénesis (Duran et al, 2008, p.252).

La función hormonal de la FSH es necesaria para iniciar la producción de espermatozoides en la pubertad. El principal estímulo externo que afecta la secreción de las gonadotropinas es la duración de las horas luz, cuando se acortan los días hay mayor producción de estas gonadotropinas, estimulándose así la función testicular, existen otros factores externos que alteran esta función como temperatura, estado nutricional, enfermedades y estrés (Duran et al., 2008, p.252)

1.4.2.1. *Control endocrino de las funciones sexuales*

Los mecanismos neuroendocrinos que regulan las funciones reproductivas del macho son fundamentalmente similares a los que regulan las funciones sexuales de la hembra. La acción

hormonal comienza en el macho con las hormonas de liberación del hipotálamo (GnRH). A la vez, la adenohipófisis y las gónadas producen otras secreciones.

En el caso de la hipófisis produce hormona Folículo Estimulante o FSH, y hormona Luteinizante o LH, mientras que los testículos generan los andrógenos (principalmente testosterona). La interacción de todas ellas regula las estructuras y funciones reproductivas del macho (Hintz, et al., 1987 citado por Valdez, 2013, p. 8).

La secreción de testosterona por los testículos es el resultado de la estimulación de las células de Leydig por la LH u hormona estimulante de las células intersticiales ICSH y a la vez es la principal hormona reguladora de la secreción de LH o ICSH. La retroalimentación negativa de la testosterona es ejercida a nivel hipotalámico por la acción de la inhibina producida en las células de Sertoli (Hintz, et al., 1987 citado por Valdez, 2013, p. 8).

El control endocrino de la espermatogénesis depende de las acciones de FSH, LH y testosterona. El sitio blanco de la LH son las células intersticiales o de Leydig; el de la FSH son las células de sostén o de Sertoli; y el sitio blanco de la testosterona son las células de Sertoli y posiblemente también las células germinales (Galina, et. al., 2009; Hafez, et. al., 2004 citado por Valdez, 2013, p.8)

1.4.3. Producción espermática (espermatogénesis)

La producción de espermatozoide se realiza en los tubos seminíferos en los testículos. La primera liberación del espermatozoide móvil y fértil ocurre después de la maduración sexual del macho (pubertad), aunque en el proceso de la espermatogénesis comienza en la vida fetal, encontrándose de forma inactiva hasta el momento que el macho entra en la etapa de pubertad. (Duran et al., 2008, p.250).

Al llegar la pubertad las espermatogonias comienzan a dividirse a través del proceso de mitosis convirtiéndose en células diploides, en estas células después de la división final se transforman en espermatocitos primarios. Estas células sufren dos divisiones meióticas, primero se hacen espermatocitos secundarios y finalmente espermátidas haploides; cada espermatocito primario produce 4 espermátidas (Duran et al., 2008, p. 251).

Sin embargo, el proceso de la división celular es sensible a los cambios fisiológicos por enfermedades, cambios nutritivos y de temperatura, etc. Muchas células espermátidas se pierden. Las espermátidas no sufren posteriores divisiones. Al principio no parecen espermatozoides, sino

que después de un periodo de transformación morfológica conocida como espermiogénesis adquieren las características. Se liberan a la luz de los túbulos y van arrastrándose, hasta la rete testis, por las secreciones de las células de sertoli (Duran et al, 2008, p. 251).

El tiempo que transcurre desde la activación de las espermatogonias hasta que aparezcan los espermatozoides libres en los túbulos, es de unos 40 días en el carnero (ciclo espermático), el paso a través del epidídimo dura de 10 a 14 días, este puede verse interrumpido por factores estresantes u enfermedad; la fertilidad normal se restaura hasta que se presente un ciclo espermatogénico completo continuo (Duran et al., 2008, p. 252).

Las divisiones de las espermatogonias no ocurren al mismo tiempo, ya que cada una comienza una nueva onda a intervalos regulares (10,5 días en el carnero). Otras espermatogonias empiezan el ciclo a diferentes tiempos, de tal manera que el aporte de espermatozoides será continuo (Duran et al., 2008, p. 252).

La espermatogénesis en el carnero demanda unos 63 días, resultante de sumar 49 días para formar espermatozoides y 14 días para la maduración espermática en epidídimo. El eyaculado del carnero presenta las siguientes características:

- Es una fracción simple, es decir única
- Su color es blanco-lechoso a cremoso pálido.
- Tiene un pH que ronda 6,7 a 6,9.
- Su volumen es bajo: en promedio valores entre 0,8 y 1,5 ml.
- Tiene una alta concentración de células espermáticas: en promedio entre 2.000 millones y 6.000 millones de espermatozoides/ml de eyaculado.
- Tiene un alto porcentaje de espermatozoides móviles: 95%. (Simonetti et al., 2014, p. 18)

1.4.4. Cubrición y eyaculación

El principal estímulo sexual es el olfatorio hasta el punto que los machos son capaces de detectar a los miembros del sexo opuesto mediante las ferohormonas. Estos mensajes químicos pueden convertirse en respuestas fisiológicas o comportamientos. Una vez estimulado por una hembra éstrica, el carnero comienza el llamado cortejo nupcial, comportamiento agresivo hacia la hembra, mueve el labio superior (Duran et al., 2008, p. 253).

Durante este proceso de excitación sexual es posible que se escape algo de líquido del proceso uretral del pene, esto es una secreción de las glándulas bulbo-uretrales y uretrales que sirven para eliminar cualquier resto de orina que permaneciera en la uretra (Duran et al, 2008, p. 253).

La eyaculación ocurre espontáneamente y dura solo unos momentos caracterizándose por un violento empuje de su pelvis. Concluida la eyaculación el mancho desmonta (Duran et al, 2008, p. 253).

Antes de la eyaculación los espermatozoides se transportan desde la cola del epidídimo hasta la ampolla del conducto deferente, durante la eyaculación los espermatozoides entran en la uretra, donde se mezclan con las secreciones de las glándulas accesorias, para mejorar su motilidad. Las poderosas contracciones de la uretra, durante la eyaculación, expelen el semen al exterior (Duran et al., 2008, p. 253).

Tabla 1-1: Características del eyaculado promedio para diferentes especies.

Especie	Tiempo de eyaculado	Volumen (ml)	Concentración
Toro	Menos de un seg	7	1,200 millones/ml
Borrego	Menos de un seg	1.5	2,000 millones/ml
Verraco	10-20 minutos	300	200 millones/ml
Garañon	10-15 segundos	75	150 millones/ml

Fuente: Rodríguez et al, 2016.

1.4.5. El semen

Es un líquido generativo del macho que contiene las células sexuales del macho (espermatozoides), se deposita en la vagina de la hembra durante la copula o puede recogerse por medios artificiales para su estudio, almacenamiento y/o uso en inseminación artificial. El semen

está formado por el plasma seminal y los espermatozoides, su composición varía según las especies (Duran et al., 2008, p.253).

1.4.5.1. *Características del semen del carnero*

El semen está conformado por una fracción líquida o plasma seminal y una fracción celular que la conforman los espermatozoides. A partir de diversos reportes se tiene que en promedio el carnero tiende a eyacular una cantidad de semen que oscila entre 0.75 a 2 ml, conteniendo una alta concentración de espermatozoides, los cuales son altamente viables (Cueto et al, 2016, p.4).

Tabla 2-1: Características del semen ovino.

Autor y año	Volumen (ml)	Concentración Millones/ml	Motiles (%)	Vivos con Acrosoma (%)	Integridad de membrana (%)
Garner y Hafez, 2000	0,8-1,2	2000-3000	60-80		
Paulenz y Col., 2002	0,75-2,0	>3500	>70		
Gil y Col.,2003	0,75-2,0	>2500	>70		
Santiani y Col., 2004			80-95	83-95	70-90
Aisen y Col., 2000			79-88	90-95*	

Fuente: citado por Sandoval, 2005.

Tabla 3-1: Componentes químicos del semen ovino.

Componentes químicos	Valores (mg/100 ml)
Ph	5.9-7.3
Proteína	5000
Fructosa	250
Sorbitol	26-170
Ácido cítrico	110-270
Inositol	7-14
Glicerilfosforilcolina	1100-2100
Sodio	178 ± 11
Potasio	84 ± 4
Calcio	6±2
Magnesio	6±0.8
Cloruro	86

Fuente: citado por Sandoval, R. 2005.

1.4.5.2. *Plasma seminal*

Es una mezcla de líquidos secretada por las glándulas vesiculares, epidídimos, conductos deferentes y otras glándulas sexuales accesorias. El testículo muy poco aporta para la formación del líquido seminal, el mismo que aporta tres funciones:

Primero actúa como vehículo para los espermatozoides, transportándolos desde el sistema reproductor del macho durante la eyaculación; segundo sirve de activador de los espermatozoides, previamente no móviles, y tercero proporciona un medio rico en nutrientes, tamponado, que colabora para mantener la supervivencia de los espermatozoides después de ser depositados en el aparato genital de la hembra (Duran et al., 2008, p. 254)

El plasma seminal de los carneros es un líquido opaco o claro, aunque el semen puede ser de color blanco o cremoso debido a su alta concentración de espermatozoides. El principal componente del plasma seminal es el agua (75%), el resto lo comprende sustancias orgánicas e inorgánicas que sirven de protectores y nutrientes de los espermatozoides, generalmente este es un líquido isotónico y neutro (Duran et al., 2008, p. 254)

La presión osmótica del semen se mantiene más por los componentes orgánicos que por los inorgánicos, aunque existen cantidades considerables de sodio, potasio y cloro. Las principales sustancias orgánicas presentes en el semen del carnero son fructosa, sorbitol, inositol, ácido cítrico, glicerilfosforilcolina, fosfolípidos, prostaglandinas y proteínas. La fructosa es el azúcar más fácilmente metabolizable y proporciona la mayor fuente de energía a los espermatozoides del semen (Duran et al., 2008, p. 254).

El pH del plasma seminal se mantiene muy próximo a 7,0 por un complejo sistema amortiguador. El plasma seminal taponado protege a los espermatozoides de los cambios bruscos de pH que deteriorarían la supervivencia de las células espermáticas. En el plasma seminal de muchas especies se encuentran prostaglandinas, que están en muy alta concentración en el semen del carnero ($> 40\mu g/ml$) (Duran et al, 2008, p. 254).

1.4.5.3. Espermatozoides

Los espermatozoides son los gametos masculinos que se producen en los túbulos seminíferos de los testículos.

1.4.5.3.1. Procesos metabólicos de los espermatozoides

Aunque los espermatozoides carecen de muchas de las organelas, poseen las enzimas necesarias para realizar diversas reacciones bioquímicas como la glucólisis, el ciclo del ácido tricarboxílico, la oxidación de ácidos grasos y el transporte de electrones (Sandoval, 2005, p.6).

La energía requerida para la motilidad proviene de reservas intracelulares de ATP cuyo empleo está regulado por la concentración endógena del monofosfato de adenosina cíclico (AMPc), compuesto que también interviene directamente sobre la motilidad de los espermatozoides. Los espermatozoides degradan los azúcares, glucosa, fructosa o manosa, a ácido láctico bajo condiciones anaerobias (Sandoval, 2005, p. 6).

Esta actividad glucolítica o más correctamente fructolítica, dado que la fructosa es el principal azúcar del semen, permite a los gametos sobrevivir en las condiciones anaerobias, característica que es importante de considerar durante el almacenamiento de espermatozoides para fines de inseminación artificial (Sandoval, 2005, p.7).

El espermatozoide utiliza una variedad de sustratos en presencia de oxígeno, actividad respiratoria que le permite emplear el lactato y el piruvato resultantes de la fructólisis de los azúcares, generando dióxido de carbono y agua. Esta vía oxidativa, que se localiza en las mitocondrias, es mucho más eficiente que la fructólisis en producir energía (Sandoval, 2005, p.7).

Aunque gran parte del ATP es empleado como fuente de energía para la actividad de motilidad espermática, parte de ésta es destinada al mantenimiento de la integridad de los procesos que intervienen en el transporte activo que se dan a nivel de las membranas del espermatozoide, procesos de transporte activo cuya función es la de mantener la concentración de los componentes iónicos vitales para la célula espermática (Sandoval, 2005, p.7).

De existir ausencia de sustratos exógenos para generar energía los espermatozoides hacen uso de sus reservas intracelulares de plasmalógeno para dicho fin, pero siendo útil sólo a corto plazo. (Sandoval, 2005, p.7).

La energía necesaria para mantener la motilidad y viabilidad de los espermatozoides procede de los azúcares especialmente de la fructosa, presentes en el plasma seminal. La glucosa que también es metabolizada por los espermatozoides, a menudo, se utiliza como componente los diluyentes. Cuando los azúcares son metabolizados por los espermatozoides se produce dióxido de carbono, agua y algo de ácido láctico (Duran et al, 2008, p. 256)

El dióxido de carbono en alta concentración tiene el efecto de inhibir la motilidad de los espermatozoides y puede ser utilizado como un medio de conservación del semen a corto plazo

1.4.5.3.2. Estructura de los espermatozoides

Un espermatozoide es una célula altamente especializada. Cada célula espermática está formada por dos partes principales: cabeza y cola. La cabeza es plana y ovoide, siendo ocupada en casi toda su totalidad por el núcleo. Este está formado por los cromosomas, responsables de portar la información genética paterna (Duran et al., 2008, p.255).

La parte anterior de la cabeza está envuelta por una capa especial, llamada acrosoma, portadora de las enzimas necesarias para el proceso de fertilización. La cola semejante a un flagelo, es el órgano locomotor de los espermatozoides. El movimiento de la cola es el responsable de la propulsión de los espermatozoides en los líquidos, la cola está conectada a la cabeza mediante un corto cuello, conocido como la región de implantación (Duran et al., 2008, p.255).

En épocas calurosas, o situaciones estresantes, el cuello puede lesionarse por lo cual se separa la cabeza de la cola, la cola posee tres regiones: pieza proximal, principal y terminal; la pieza proximal es la más gruesa, allí está rodeada de una lámina mitocondrial necesarias para la locomoción, la parte principal es la más larga de la cola y contiene la mayor parte de la maquinaria propulsora, la pieza terminal carece de vaina y es corta (Duran et al., 2008, p.255).

1.4.5.3.3. Motilidad de los espermatozoides

La motilidad es un requisito para la fertilización, este proporciona un medio, relativamente sencillo, para conocer la calidad del semen. Los espermatozoides pueden tener los siguientes tipos de movimientos:

- Movimiento progresivo hacia delante.
- Movimiento circular o rotatorio.
- Movimiento oscilatorio o convulsivo sin progreso ni cambio de posición.

Estos movimientos solo pueden visualizarse por microscopía, bajo cubre-objetos. La velocidad de movimiento hacia delante de un espermatozoide, suspendido en plasma seminal, es de 5 a 15 mm/min (promedio 7mm/min), la velocidad y tipo de movimiento puede variar por distintos factores: método de recogida del semen, factores ambientales, manejo del semen después de la recogida, intervalo entre recogida y variaciones individuales del propio seminal (Duran et al., 2008, p.256).

1.4.5.3.4. Factores que afectan la supervivencia de los espermatozoides

El semen de buena calidad se puede deteriorar con facilidad, el semen del carnero es muy sensible a los cambios ambientales y a otras circunstancias, por lo que es aconsejable tomar medidas precautorias cuando se manejen muestras de semen. Los factores que puedan afectar la supervivencia de los espermatozoides son los siguientes (Duran et al, 2008, p. 257).

- Temperatura

La temperatura del semen, en el momento de la eyaculación, es próxima a la del cuerpo (37,5°C). La exposición del semen a temperaturas superiores indica aumento del ritmo metabólico, se agotan las reservas de energía y decrece la vida media del espermatozoide. Temperaturas superiores a los 45°C matan a los espermatozoides. (Duran et al., 2008, p. 257).

- Luz

Una exposición corta a la luz solar puede reducir la viabilidad de los espermatozoides y si esa exposición se prolonga entre 30 y 40 minutos pueden morir; es aconsejable evitar la exposición directa del semen a la luz solar por lo cual las operaciones de recogida y manejo del semen debe ser en interiores y lejos de los rayos de luz que puedan penetrar por las ventanas. (Duran et al., 2008, p. 257).

- Contacto con el agua

El agua es un agente espermaticida, razón por la cual no debe ponerse en contacto el semen con el agua, antes de usar cualquier material en la recolección deben ser secados minuciosamente. Sellar bien el tubo colector con el semen al momento de colocar el semen en el baño, de tal forma que no caiga agua. (Duran et al., 2008, p.257).

- Impurezas

Las bacterias, el polvo, orina y otros contaminantes que pueden estar contenidos en el semen reducirán, e incluso matarán, la viabilidad de los espermatozoides. La contaminación del semen ocurre con más frecuencia durante la recogida y puede evitarse mediante el lavado, a fondo, del prepucio del macho antes de manejarlo (Duran et al., 2008, p. 258).

1.5. Selección de reproductores

El objetivo de un programa de mejoramiento genético es el aumento de la producción (lana, carne, leche), en calidad y/o cantidad. Para el logro de este objetivo los reproductores a utilizar deben ser seleccionados por medidas objetivas de producción. Además, deberán tenerse en cuenta otros

factores, como el estado sanitario de los animales, así como la ausencia de anormalidades físicas (Cueto et al., 2016, p.3).

Para evaluar el estado de los machos será necesario efectuar un examen clínico completa. Se deberá también evaluar el comportamiento reproductivo a través de un test de capacidad de servicio a corral, situando a los machos en presencia de hembras en celo. Será importante, además, antes de comenzar el programa, evaluar que el macho seleccionado produzca semen en calidad y cantidad adecuadas (Cueto et al., 2016, p.3).

Para iniciar un proceso de la selección que apunte a la mejora genética del rebaño, lo primero que se requiere es definir claramente el objetivo productivo a alcanzar. Éste generalmente debe ser medible y visible desde un punto de vista económico; es decir, la mejora sólo tiene sentido si es realizada para aumentar el retorno económico del plantel ganadero (Carvajal et al., 2012).

1.5.1. Selección del carnero

La decisión genética más importante de un productor es la elección de los carneros (monta natural) que va a usar, porque es responsable del 80% del progreso genético de su rebaño. Ya que es padre de muchas crías, y por qué su intensidad de selección debe ser mucho mayor. (FUNDACIÓN CHILE, 2008, p.49).

Para esto no sólo se debe conocer la genética del carnero que se va a elegir, si no también conocer la genética actual del rebaño, para que la elección del carnero realmente mejore la genética del rebaño. Los requisitos básicos para un carnero son los siguientes (FUNDACIÓN CHILE, 2008, p.18).

1.5.2. Registros

Escoger carneros que tengan registros de desempeño propio, y que sean padres de corderos de alto desempeño en las características que se desean mejorar. Es importante verificar que los desempeños registrados de los carneros candidatos sean superiores a los que se tienen en el rebaño actual, si no son mejoradores para el rebaño que lo recibe, no puede haber progreso genético para esas características, (FUNDACIÓN CHILE, 2008, p.49).

1.5.3. *Examen de aptitud reproductiva*

La evaluación de la aptitud reproductiva del macho se realiza previa y posterior al servicio, a una exposición o venta, para la extracción de semen para la inseminación artificial (IA) o en casos de peritajes. La finalidad de la evaluación es determinar si el animal es apto, no apto o cuestionable para la reproducción. Este examen consta de una serie de pasos que deberían realizarse en forma rutinaria y sistemática (Gómez, 2013, p.27).

El examen de aptitud reproductiva tiene que demostrar que el carnero es capaz de encontrar y preñar a la oveja en celo. Diversos estudios demuestran que aproximadamente el 10 y el 15% de los carneros no aprueban este examen. (FUNDACIÓN CHILE, 2008, p. 15).

Además, deben ser considerados el deseo y habilidad de montar ovejas en celo (libido) y las jerarquías sociales del rebaño. Un examen completo de aptitud reproductiva debe considerar el examen de órganos reproductivos externos, pero también debe incluir otras estructuras (FUNDACIÓN CHILE, 2008, p. 49).

1.5.4. *Examen físico*

Pies y manos deben estar aptos para buscar, encontrar y montar hembras en celo. Además, debe ser capaz de ver, comer y olfatear normalmente. Cualquier condición que interfiera estas funciones bajará la habilidad de cría del carnero, (FUNDACIÓN CHILE, 2008, p. 49)

1.5.5. *Examen de condición corporal*

Carneros muy delgados o muy gordos no tienen buena aptitud reproductiva, ya que requerirán de mayor esfuerzo para montar y caminar si están muy gordos, o pueden debilitarse durante el encaste si están muy flacos (FUNDACIÓN CHILE, 2008, p. 50).

La condición corporal y los cambios en la condición corporal, son el mejor indicador de las reservas nutricionales del animal. Son un mejor indicador que el peso vivo o cambios en el peso vivo, debido a las diferencias del peso fetal y llenado de rumen, que inciden en los cambios de pesos. También es un mejor indicador que las medidas de relación peso altura, o inclusive que las mediciones de grasa subcutánea (Van Niekerk y Louw 1982, citado por Delgado, 2015, p. 19).

Existen distintas escalas para la clasificación de la condición corporal, pero todas se basan en la observación de rasgos similares. En la siguiente tabla se presenta una escala los rangos de la clasificación 1 a 5, (Van Niekerk y Louw 1982, citado por Delgado, 2015, p. 19).

Tabla 4-1: Escala de condición corporal.

Escala de condición corporal con grados del 1 a 5	
1 1,5	Muy flaco
2 2,5	Flaco
3 3,5	Normal – Óptimo
4 4,5	Gordo
5	Muy Gordo

Fuente: Frasinelli, Casagrande, & Veneciano, 2004, citado por Delgado, 2015.

Realizado por: Chunata Mantilla Shirley, 2019

Machos mal alimentados o con sobrepeso pueden tener lesiones irreversibles en los testículos, en caso de animales jóvenes la pubertad se vería atrasada. Se recomienda no seleccionar machos con mal estado físico y pobre condición corporal, debido a que se presentan problemas de fertilidad, (Delgado, 2015).

1.5.6. *Perímetro escrotal*

El perímetro escrotal está muy relacionado con el peso del testículo y con la producción de semen normal. Tiene alta heredabilidad (60%), por lo que la selección es muy efectiva para esta característica, cabe destacar que hay algunas diferencias por raza que deben ser consideradas. Los testículos deben revisarse también para las demás pruebas mencionadas como son la simetría, ausencia de dolor a la palpación, heridas, consistencia, etc, (FUNDACIÓN CHILE, 2008, p .50).

Es una característica que puede ser usada como criterio de selección de los machos con el objetivo de aumentar la fertilidad de los rebaños, es la circunferencia escrotal (CE). Este parámetro presenta una estimativa de heredabilidad de moderada a alta, es de fácil medición y presenta

correlación genética favorable con la tasa reproductiva de las hembras (Mello, 2014 Barrozo et al., 2012 citado por Espitia et al., 2018, p. 74).

Tabla 5-1: Evaluación de aptitud reproductiva en carneros.

Evaluación de aptitud reproductiva en carneros a través de la medición del perímetro escrotal (cm)			
Criterio	Clasificación		
Edad (meses)	Cuestionable	Satisfactorio	Excepcional
8 - 14 meses	< 30	30 – 36	> 36
> 14 meses	< 32	32 – 40	> 40

Realizado por: Chunata Mantilla Shirley 2019.

1.6. Biometría testicular

1.6.1. *Tamaño y peso testicular*

El tamaño testicular (TT) ha sido la característica más utilizada para predecir la eficiencia reproductiva de un macho. Las características testiculares están directamente relacionadas con la producción y la calidad seminal. Las medidas de longitud, ancho, volumen y CE proporcionan una idea de la cantidad de parénquima testicular, y en cuanto a la consistencia del parénquima testicular comprueba la normalidad fisiológica, puesto que el testículo en plena capacidad funcional presenta consistencia fibro-elástica (Ramírez et al., 2016, p. 50).

El tamaño testicular varía según las razas, la edad y presencia de patologías. Se puede medir el largo, ancho y espesor expresándolo en centímetros; esto no es una práctica rutinaria, y además no es una medición exacta debido a la presencia de la cabeza y la cola del epidídimo que dificultan la medición del largo (Delgado, 2015, p. 27).

En el carnero el tamaño testicular está asociado a la concentración de testosterona y los niveles de LH, presentando una alta correlación con la libido, la capacidad de servicio, el volumen y la concentración del semen. Con el tamaño testicular se puede tener una estimación favorable de la calidad del semen y la producción espermática a temprana edad (Aguirre, 2004, p.28).

El peso testicular está en función directa con la cantidad de epitelio seminífero productor de espermatozoides y, por lo tanto, con la concentración espermática del eyaculado. Así una selección por mayor CE se traducirá en una producción seminal más rica en espermatozoides (Espitia et al, 2018, p. 28).

1.6.2. *Circunferencia escrotal (CE)*

La circunferencia escrotal (CE) es un indicador del potencial reproductivo en machos, y adquiere relevancia debido a su alta repetibilidad y heredabilidad de moderada a alta magnitud, siendo fácilmente medida a bajo costo, además de estar genéticamente asociada de modo favorable con la fertilidad de las hembras (Ramírez et al., 2016, p. 50)

La circunferencia escrotal (CE), es un indicador muy importante de fertilidad de los machos, partiendo de la base que el mayor progreso genético se logra a través de la selección por este carácter, su heredabilidad permite mejorar parámetros reproductivos en machos y hembras. (Espitia, 2017, p. 74).

La CE se define como el tamaño testicular expresado en cm, y se relaciona con la cantidad de epitelio seminífero presente en el parénquima testicular. Es un parámetro utilizado con frecuencia en programas de mejoramiento genético animal, debido a su fácil medición, alta repetibilidad y heredabilidad moderada a alta (Espitia, 2017, p. 74).

Las relaciones de las medidas testiculares con la producción de semen y la fertilidad en los machos, han demostrado que la CE está significativamente correlacionada con la concentración de espermatozoides por eyaculado, el volumen escrotal y el peso corporal (Espitia, 2017, p. 75).

Otro aspecto importante es que la CE se encuentra favorablemente asociada a características de crecimiento corporal. La CE puede, por lo tanto, ser usada como criterio de selección de los machos con el objetivo de aumentar la fertilidad de los mismos. Esta medida presenta heredabilidad media, (Crudeli, et al., 2005, citado por Espitia, 2017, p. 77).

1.6.3. *Examen de epidídimos*

La evaluación de los epidídimos se debe hacer por palpación al momento de realizar el examen de los testículos. El epidídimo es el lugar donde se almacenan los espermatozoides producidos por los testículos; igualmente, es el lugar donde maduran los espermatozoides y adquieren la

capacidad potencial para fertilizar. El órgano está adosado en cada testículo y anatómicamente consta de tres porciones: cabeza, cuerpo y cola. Para ello se explorará cada una de las partes por separado y comparando la derecha con la izquierda (Delgado, 2015, p.29).

1.7. Vigorización de machos

Al igual que las ovejas, los moruecos han de llegar en estado óptimo a la cubrición para lo cual deberemos empezar a trabajar con ellos al menos 1 mes antes en los siguientes aspectos:

1. Revisión del estado sanitario general del animal. Si se ha de realizar cualquier acción este es el momento para vacunar, desparasitar o tratar al animal.
2. Se ha de poner especial atención a la revisión de las patas: recortar, curar y pinchar en caso de ser necesario.
3. Revisión de la condición corporal y adecuación de la ración en caso de aportes inadecuados. Un exceso de energía en la ración puede producir disminución de la libido y peor calidad espermática y un aporte deficiente puede producir menor producción espermática.
4. Aportar corrector mineral. Es recomendable que el corrector tenga cloruro amónico en un 1,25-1,5% para evitar problemas de urolitiasis.
5. Los machos no alcanzan la madurez sexual hasta los 20-24 meses, pero se pueden utilizar machos de reposición a partir de los 9-10 meses para que vayan aprendiendo. Estos deberán cubrir junto con los adultos, nunca solos, y para poder utilizarlos se deberán cuidar y alimentar adecuadamente, así alcanzarán la madurez sexual antes. Es importante no bajar la guardia e intentar que los machos no pierdan estado de carnes.
6. A partir de los 7 años la capacidad fecundante de los machos disminuye en gran medida por lo que es mejor eliminarlos como reproductores.
7. Revisión de testículos, pene y prepucio. Es recomendable hacer una palpación testicular y eliminar aquellos animales con lesiones, también hay que explorar el pene y prepucio para comprobar que no existen lesiones, infecciones, etc.

8. Es necesario disponer de 1 macho para cada 20 ovejas si queremos hacer una cubrición agrupada (5 machos para un rebaño de 100 ovejas). Para tener suficientes machos es recomendable dejar un 20% de corderos de reposición sobre el total de machos existentes en la explotación (itgGANADERO, 2007).

1.8. Métodos de colección de semen

La calidad del semen que vayamos a utilizar al momento de la inseminación, depende tanto del método y época de recolección, como del estado general de los reproductores, siendo importante tener en cuenta todos los aspectos que hacen al manejo de los mismos (Cueto, 2016, p. 3).

Las situaciones que provoquen stress en los machos tales como la esquila, el transporte y el acostumbramiento a una nueva alimentación, deberán concluirse 6 a 8 semanas antes de su inclusión en un programa de inseminación artificial (IA). Es aconsejable suplementar a los machos durante el período de recolección de semen (Cueto, 2016, p. 4).

1.8.1. *Ventajas y desventajas del uso de los métodos de extracción de semen*

- La extracción por medio de vagina artificial brinda una mayor concentración de espermatozoides en el eyaculado; por tanto, es más viable para someterlo a congelación.
- Por otro lado, el método de uso de la vagina artificial requiere de un entrenamiento previo del macho de parte de un operario especializado, un caballete y la presencia de una hembra en celo para estimular al macho lo que dificulta su trabajo en campo abierto.
- El uso del electroeyaculador es fácil de realizar, no requiere hembras en celo ni equipo para la monta y se lo puede realizar en campo abierto.
- El principal y más importante uso del electroeyaculador es la obtención de semen de forma rápida y fácil para la evaluación reproductiva de los machos.
- El uso del electroeyaculador puede contaminar la muestra con residuos de orina si no se prepara adecuadamente al macho (Gómez, 2013, p. 19).

1.8.2. *Colección de semen con vagina artificial*

La colección de semen mediante vagina artificial requiere del condicionamiento de los carneros para montar y eyacular en respuesta a una hembra inmóvil o a un maniquí. Algunas técnicas de entrenamiento de carneros para colección de semen mediante vagina artificial, utilizando como estímulo objetos inanimados (Orihuela, 2014).

En un intento por mantener alta la libido de machos durante la colección de semen, Lezama et al, cambiaban a la hembra como estímulo después de cada eyaculado del macho. Sin embargo, aunque es posible obtener más eyaculados de los carneros, esta práctica no mejora las características seminales ni el intervalo entre eyaculados. Aparentemente debido a que se requiere más de un eyaculado por hembra (cierto saciamiento sexual) para que este cambio de hembra estímulo se pueda ver reflejado en el restablecimiento de la libido y concentración espermática del carnero, (Orihuela, 2014).

1.8.2.1. *Entrenamiento de machos para la colección del semen*

Los machos seleccionados por sus aspectos genéticos, reproductivos y sanitarios deben ser entrenados para realizar la monta en un maniquí o hembra en celo inmovilizada, que permita colectar el eyaculado en la vagina artificial en presencia de un operador. Las siguientes consideraciones favorecen una rápida adaptación a la rutina de colección seminal por el método de la vagina artificial:

- En la época reproductiva se facilita el entrenamiento, dado que el incremento del interés sexual o libido disminuye la inhibición de los reproductores a realizar la monta en presencia del hombre.
- El entrenamiento se iniciará con tiempo suficiente para que los animales se adapten a una rutina de trabajo, entre 20 a 30 días previo a la colecta seminal.
- Será necesario iniciar el entrenamiento con más machos de los necesarios, debido a que algunos de ellos no se adaptarán a la rutina de obtención seminal mediante la vagina artificial.
- Los animales jóvenes se amansan con mayor facilidad y presentan mayor vida útil.

- La presencia de “machos demostradores”, es decir ya entrenados para eyacular en vagina artificial, facilitan el entrenamiento.
- Las rutinas de manejo, así como un trato amable y pausado, reducen el stress de los animales y acortan los tiempos de entrenamiento. (Cueto, 2016, p.7).

1.8.3. Colección de semen con electroeyaculador

Se basa en la estimulación de los nervios simpáticos lumbares sacros dependientes del pudendo a través de estímulos eléctricos. Se introducen por el recto unos electrodos multipolares, los cuales están conectados a un transformador, el cual permite descargas eléctricas controladas y rítmicas por parte del operador (Avilés, 2018, p. 25).

La colección se puede hacer estando el animal de pie o en posición decumbente (sentado); que es más fácil sacar, sujetar y colocar el pene adentro del recipiente, el cual debe estar cubierto para protegerlo de los rayos solares o de la luz intensa y con una temperatura de 30° a 37°C; esto se logra introduciendo el tubo colector en un termo pequeño o vagina artificial (Avilés, 2018, p. 25).

La técnica de electro eyaculación consiste en dar pulsos eléctricos muy leves en la próstata y vesículas seminales para que el animal presente erección y eyaculación (Arieta, R. 201, citado por Barragán, 2017, p.13)

Una técnica de colección de semen, utilizada en aquellos machos que no han sido entrenados para trabajar con una vagina artificial, con problemas de patas, columna o falta de libido, es la electroeyaculación (Orihuela, 2014).

Existen varios tipos de estimuladores eléctricos; estos, en común, usan un electrodo bipolar rectal que emite entre 10 a 15 voltios; cuando el recto del animal esta reseco es necesario un mayor voltaje (15v) (Gómez, 2013, p. 20).

1.8.3.1. Ventajas y desventajas

El uso del electroeyaculador es fácil de realizar, no requiere hembras en celo ni equipo para la monta y se lo puede realizar en campo abierto; El principal y más importante uso del electroeyaculador es la obtención de semen de forma rápida y fácil para la evaluación

reproductiva de los machos; con esta técnica, la extracción disminuye la concentración de espermatozoides en el eyaculado por lo que es aconsejable su uso en fresco para inseminación directa (Hopkins y Evans, 2003 citado por (Avilés, 2018, p.26).

Esta técnica no requiere montar animales, no es físicamente demandante y es fácilmente adaptable a la mayoría de las instalaciones para manejo de ganado (Rangel, E. 2007 citado por Barragán, 2017, p.15).

1.8.3.2. *Procedimiento de extracción de semen por eyaculador*

- Para la colección el animal debe estar recostado en decúbito lateral sobre una mesa o piso limpio.
- Se depilará el área prepucial y perianal se limpiará con algodón se preparará el tubo colector colocándolo en la punta del glande.
- Se introducirá el estimulador, vía transrectal una profundidad de 15 a 20cm evitando lesiones utilizando lubricante. El transductor se presionará sobre el piso de la pelvis y se emitirán estímulos cortos de entre 3 a 8 segundos en intervalos de 15 a 20 segundos.
- Después de varios estímulos las glándulas empezarán a secretar el fluido seminal.
- La cantidad de fluido seminal podrá variar entre machos dependiendo de la cantidad de estímulos que se le suministren, sin embargo, aparte de la molestia y la contracción muscular no existen efectos colaterales permanentes (Barragán, 2017, p.15).

1.9. **Evaluación y valoración de semen ovino**

1.9.1. *Valoración macroscópica*

Mediante esta estimación realizada a simple vista se obtienen datos que permiten evaluar, a grandes rasgos algunos aspectos cualitativos y cuantitativos del semen (Pezzone, 2008 citado por Avilés, 2018, p.27)

1.9.1.1. *Color y olor*

El color y el olor del semen son los primeros factores que se valoran y se deben hacer en el mismo tubo de recolección, inmediatamente obtenido, el semen del carnero normalmente es de color blanco lechoso o crema pálido, pudiendo variar de unos eyaculados a otros, aun del mismo semental. Coloraciones diferentes a las mencionadas son indicadores que el animal está enfermo o la forma de recolección es inadecuada ya que puede estar contaminada (Duran, 2008, p. 272).

Se realiza mediante la observación directa del eyaculado en el tubo colector; el olor debe ser sui géneris o característico propio de la especie (Hafez y Hafez, 2000 citado por Avilés, 2018, p.28).

1.9.1.2. *Volumen*

El volumen del eyaculado se puede medir directamente en el tubo de recogida, si esta calibrado, o, con una pipeta calibrada. Cuando la recogida se hace con vagina artificial el promedio del volumen, para carnero es de 1,0 ml depende de la edad y condición corporal. Cuando el semen se obtiene por electroeyaculación, el volumen depende en gran medida de la destreza del operario, así como también de la respuesta del semental (Duran, 2008, p. 273).

El volumen del semen eyaculado en carneros suele poseer un rango muy variable que puede oscilar entre 0.3 – 2.0 ml (Herrera, 2000 citado por Avilés, 2018, p.27).

1.9.1.3. *Potencial de hidrógeno (pH)*

Los valores altos están relacionados con secreciones de las glándulas accesorias, orina en el eyaculado, y a la mortalidad espermática. En la oveja los pH alcalinos están asociados con una baja calidad. Lo normal es de 6.6-7.0 (De Lucas, 2004 citado por Avilés, 2018, p. 28).

1.9.2. *Valoración microscópica*

1.9.2.1. *Motilidad masal*

La motilidad masal se valora mediante la característica de onda de movimientos del semen o según la proporción de la motilidad progresiva de los espermatozoides en una muestra. Cuando

el semen ha sido diluido extensivamente o congelado y descongelado se debe utilizar la valoración mediante la proporción de espermatozoides progresivamente móviles (Durán et al. 2008, p. 273).

La motilidad es uno de los parámetros más importantes de la analítica seminal. Estos métodos evalúan el porcentaje de espermatozoides móviles, así como el tipo de movimiento que presentaba la media de una población espermática. Estas medidas ofrecen una descripción general de la motilidad espermática, pero la exactitud y precisión están limitadas por las condiciones del sistema de medida y por la destreza del observador (Hidalgo, C. Tamargo, C. y Monforte, C. 2005 citado por (Barragán, 2017, p.18).

Tabla 6-1: Valoración de la motilidad masal.

Calidad	Movimiento	Porcentaje
Muy Bueno	Movimiento masivo muy marcado y rápido.	70-100
Bueno	Movimiento aparente pero moderado	50-69
Suficiente	Ondas apenas apreciables	30-49
Pobre	No muestra ondas	Menor de 30

Fuente: Angelino, J. 2009 citado por Barragán, I. 2017.

Realizado por: Chunata Mantilla Shirley 2019.

1.9.2.2. *Motilidad individual*

La motilidad individual progresiva se estima como la velocidad de desplazamiento hacia adelante de los espermatozoides vivos en una escala subjetiva entre 0 y 5 (0, mínimo; 5, máximo) (Cueto et al., p. 8).

La muestra es observada con microscopía de contraste de fase y con aumento de 200-400x, determinando el porcentaje de células espermáticas con movimiento progresivo lineal. Si el semen está muy concentrado, la muestra puede diluirse con una solución amortiguadora o diluyente de semen antes de colocar el cubreobjetos (Angelino, J. 2009 citado por Barragán, 2017, p.20). Subjetivamente podemos estimar esta escala según las siguientes apreciaciones:

Tabla 7-1: Escala de medición subjetiva de la motilidad individual progresiva.

Calificación	Característica
0	Los espermatozoides no se mueven
1	Los espermatozoides se mueven en el lugar, giran sobre sí mismos.
2	los espermatozoides se trasladan brevemente, pero “se quedan”
2,5	Los espermatozoides se trasladan, puedo seguir su trayectoria con la vista.
3	Los espermatozoides se trasladan, es difícil seguir su trayectoria con la vista.
4	Los espermatozoides se trasladan a mucha velocidad, prácticamente no puedo seguir su trayectoria con la vista, “los veo pasar”
5	Los espermatozoides se trasladan a tanta velocidad que no puedo seguir su trayectoria con la vista, “no los veo pasar”

Fuente: Cueto et al., 2016.

Realizado por: Chunata Mantilla Shirley 2019.

1.9.2.3. *Concentración espermática*

La determinación, con exactitud, de la concentración, esto es, el número de espermatozoides por unidad de volumen (ml), es muy importante, ya que la relación de dilución depende de ella. El semen del carnero de buena calidad contiene entre 2,5 a 5,0 mil millones (2,5-5,0x10 de espermatozoides/ml), la valoración de espermatozoides puede ser valorada por diferentes métodos basados en la apariencia o consistencia del semen (Duran et al., 2008, p. 275).

Hay distintos métodos que permiten la determinación de la concentración espermática, entre ellos recuento en la cámara de Neubauer o por fotolorímetro. Ambos métodos son precisos; si bien el fotolorímetro permite un recuento más rápido en comparación con la cámara de Neubauer, su costo es más elevado (De Lucas, 2004 citado por Avilés, 2018, p. 29).

1.9.2.3.1. Recuento en cámara de Neubauer

La cámara de recuento consta de dos piezas:

- Una pieza de vidrio en la que se encuentra labrado el reticulado en que se depositará el material a examinar.
- Un cubreobjetos específico que montado sobre la pieza anterior formará la cámara propiamente dicha.

La cámara de conteo es un portaobjetos de vidrio grueso con dos cuadrículas situadas a un lado y otro (superior e inferior) del centro de la cámara. Cada cuadrícula presenta 4 cuadrantes, con 16 cuadrados cada uno (cuadrados grandes). Las dimensiones de los cuadrantes de 1 mm de lado por 0.1 mm de profundidad, determinan un volumen de 0.1 mm³. (Cueto et al., 2016, p. 9)

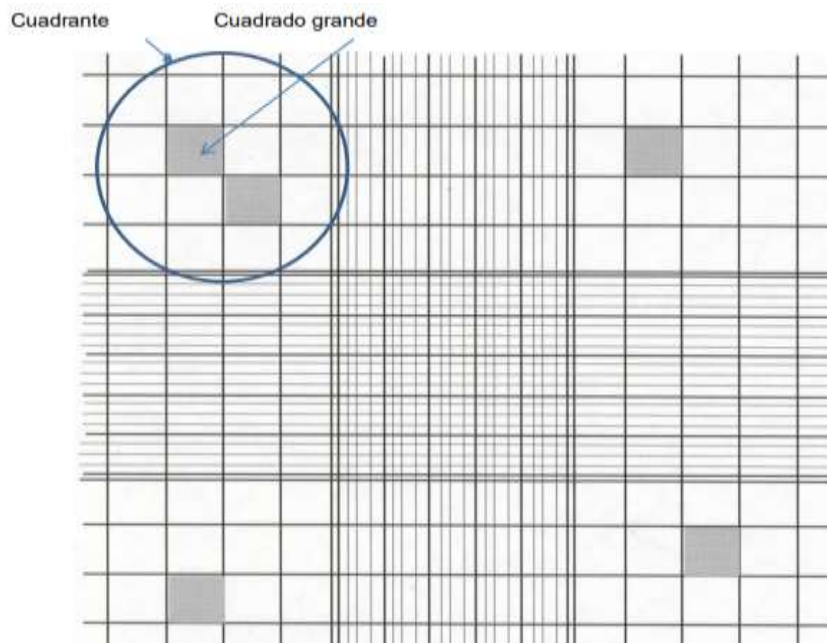


Figura 1-1: Diagrama de la cuadrícula de la cámara de Neubauer.

Realizado por: Cueto et al., 2016.

El recuento en cámara se lleva a cabo a través de los siguientes pasos:

- Adherir el cubreobjetos sobre la cámara humedeciendo sus bordes con saliva y ejerciendo luego una firme presión contra la cámara. Si la adhesión es correcta se observa en los bordes del cubreobjetos un fenómeno de difracción de la luz denominado "anillos de Newton".
- Aspirar 5 microlitros de semen mediante micropipeta (previa homogenización del eyaculado). Secar los laterales del tip de la micropipeta con papel blanco, cuidando de no variar el enrase. Diluir los 5 microlitros de semen en un tubo con 2 ml de líquido de dilución (puede ser agua común) (dilución 1:400).
- Luego de agitar el tubo, cargar la micropipeta con aproximadamente 10 microlitros.

- d) Colocar la punta del tip de la micropipeta en el borde del cubreobjetos y dejar que la cámara se cargue por capilaridad. El líquido no debe pasar a los surcos laterales de la cámara ni deben quedar burbujas de aire o zonas sin cargar.
- e) Colocar la cámara bajo observación microscópica (100 aumentos). Si los espermatozoides no están distribuidos uniformemente en toda la cámara, debe repetirse la operación de cargado.
 - Dejar reposar unos minutos antes de iniciar el recuento.
- f) Se cuenta el número de espermatozoides en un cuadrado grande por cada cuadrante y se repite el conteo en uno de los cuadrantes elegido al azar, contándose en total 5 cuadrados. (Cueto et al., 2016, p. 10).

1.9.2.4. *Células vivas-muertas*

Para la determinación de esta prueba, se utiliza un colorante llamado eosina-nigrosina siendo el más comúnmente utilizado para determinar la relación vivos - muertos en un eyaculado. Cuando el semen se ha manejado correctamente y la tinción es llevada a cabo en forma apropiada, el porcentaje de espermatozoides vivos está altamente correlacionado con la motilidad progresiva individual. Por lo tanto, esta técnica es útil para corroborar las estimaciones hechas en las técnicas anteriores de motilidad (Pezzone, 2008 citado por Avilés, 2018, p. 30).

1.9.2.5. *Morfología*

El examen morfológico del semen es una prueba de control de calidad, cada eyaculado contiene una serie de espermatozoides anormales, si la proporción de estos es muy alta entonces se estará ante un semen de baja fertilidad. Los espermatozoides anormales se pueden detectar en frotis de semen teñidos, preparados sobre un portaobjetos; la preparación, tinción y observación demandan bastante tiempo por lo que es indispensable evaluar después de cada eyaculado (Duran et al, 2008, p.279).

Sin embargo, es admisible examinar el semen de los carneros, integrantes de un programa de inseminación artificial, antes de comenzarlo, particularmente si se trata de sementales recién introducidos en el programa o que hayan sufrido algún estrés, que pueda afectar la calidad del semen. Es aconsejable el control a lo largo del programa. (Duran et al, 2008, p.280).

Para el examen rutinario de morfología de los espermatozoides se puede utilizar la tinción de eosina-nigrosina; los pasos para valorar la morfología de los espermatozoides, en una muestra de semen son los siguientes:

1. Colocar, 1 o 2 gotas de colorante y una pequeña gota de semen, sobre el extremo de un portaobjetos, templado (37°C).
2. Se mezclan el semen y el colorante, se extienden sobre el portaobjetos con la ayuda de otro portaobjetos que hace la función de entendedor, de tal manera que se forme una delgada película sobre el portaobjetos.
3. Dejar que se seque la muestra y observar al microscopio con aumento grande (por lo menos 400x).
4. Examinar, por lo menos, 100 espermatozoides de diferentes campos, cuantos más espermatozoides se observan más aumenta la seguridad de la prueba. (Duran, 2008, p. 281)

Las formas anormales se clasifican como anomalías de cabeza (defectos de acrosoma, cabezas sueltas anormales, piriformes, estrechos en la base, contorno anormal, tamaño diferente); de pieza media (anormal o abaxial); de cola (doblada simple, doblada terminal); gotas citoplasmáticas proximales o distales y cabezas sueltas normales (López et al., 2011 citado por Valdez, 2013, p. 17)

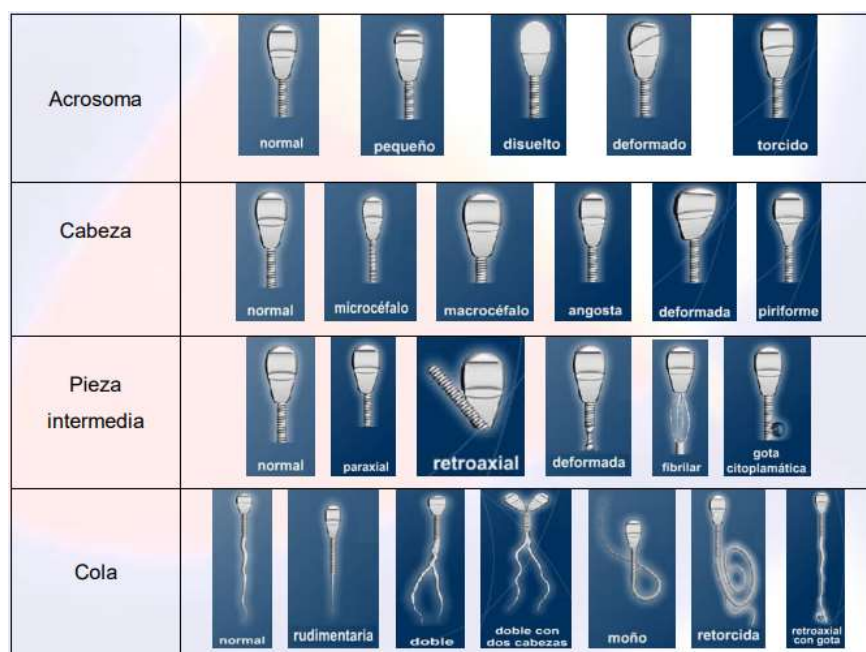


Figura 2-1: Alteraciones morfológicas de los espermatozoides.
Fuente: Valdez, D. 2013

1.10. Procesamiento del semen

1.10.1. Diluyentes

La dilución del semen para la IA se lleva a cabo por razones técnicas y biológicas:

- Razones técnicas: Incrementar el volumen de eyaculado para inseminar un mayor número de hembras.
- Razones biológicas: Proveer a los espermatozoides, nutrientes y protección de las temperaturas de enfriamiento y congelamiento (Cueto et al., 2016, p. 11).

Los diluyentes para congelar el semen de carnero deben tener propiedades similares a los diluyentes que se utilizan con semen fresco; esto es, deben estar taponados contra los cambios de pH, de tonicidad y contener una fuente de energía. Además, deben contener una sustancia (normalmente yema de huevo) para proteger la membrana celular durante el enfriamiento a 5°C y un agente crioprotector para evitar lesiones de la membrana durante la congelación (Duran, 2008, p.294)

1.10.1.1. Andromed

Es un diluyente seminal sin yema de huevo siendo remplazada por lecitina de soya, evitando el riesgo de contaminación bacteriana y variaciones indeseables en lotes de semen congelado. Contiene fosfolípidos, TRIS, ácido cítrico, azúcares, antioxidantes, tampones, glicerina, agua de altísima pureza y antibióticos. Andromed® ha sido ampliamente empleado en la congelación y refrigeración del semen bovino, sin embargo, también se ha usado exitosamente en especies no bovinas especialmente ovina y caprina (Valdez, 2013, p. 36).

1.10.1.2. One step

Es un buffer que contiene TRIS, Ácido cítrico, azúcar, Glicerina, agua purísima y antibióticos, adecuado para el procesamiento de semen en dilución de 1 paso. Este diluyente se ha establecido como un medio clásico para la producción de semen bovino especialmente, pero también se han

podido congelar una serie de eyaculados de otros mamíferos, como 37 ovinos, caprinos, camélidos y caninos, como igualmente de diversas especies exóticas (Valdez, 2013, p. 37).

Según la normativa CSS, necesita adición de yema de huevo.

1.10.1.3. *Yema de huevo*

Es conveniente completar la preparación del diluyente el día de su utilización, agregando la yema de huevo a la solución madre; esta última debe entibiarse previamente en baño termostático para facilitar la homogeneización. La yema debe ser fresca, proveniente de un huevo de no más de 3 días. La cáscara de huevo se lava cuidadosamente, se limpia con un paño mojado en alcohol, y se deja secar (Cueto et al., 2016, p. 12).

Luego de que se separa la clara, la yema se sitúa sobre un papel absorbente, cuidando de que no se rompa su membrana. El resto de clara puede terminar de separarse haciendo rodar la yema suavemente sobre el papel. Atravesando la membrana de esta última con una jeringa, se extrae la yema desde el interior y se enrasa la cantidad necesaria en la probeta. Una vez agregada la yema de huevo, la solución se homogeniza varias veces invirtiendo la probeta tapada con papel de aluminio (Cueto et al, 2016, p. 12).

1.10.1.4. *Disolución*

La disolución se realiza por agitación, entibiando ligeramente. Se procede a determinar el pH, cuyos valores deben estar entre 6,7 y 6,9. Si el pH fuera ácido se corrige con una solución de hidróxido de sodio débil (1M= diluir 0.4 g de NaOH en agua destilada hasta completar 10 ml de solución); si fuera alcalino se corrige con una solución de ácido cítrico (1M= diluir 1.9 g de ácido cítrico en agua destilada hasta completar 10 ml de solución) (Cueto, 2016, p. 12).

1.10.2. *Protocolo del procesamiento del semen*

Se empleó un protocolo de crioconservación de semen de congelación lenta, conformado por un proceso de enfriamiento y uno de congelación.

En la primera fase del enfriamiento, se diluyó el semen 1:1 con la primera fracción del diluyente a 35 °C; luego se disminuyó la temperatura hasta llegar a los 5 °C en un lapso de 90 min (1 °C por cada 3 min). En la segunda fase, se agregó la segunda fracción del diluyente en una relación 1:1 con el semen previamente diluido y se incubó a 5 °C durante 30 min, para estabilizar la muestra (Salamon y Maxwell, 2000 citado por Ruiz. et al, 2015, p. 50).

Al término del periodo de estabilización, el semen se envasó en pajillas de 0.5 ml. Luego, las pajillas fueron congeladas con los vapores de nitrógeno líquido, disminuyendo la temperatura de 5 a -25°C en un lapso de 6 min (5 °C/min), para finalmente sumergirlas en el nitrógeno líquido (Byrne et al., 2000 citado por Ruiz. et al, 2015, p. 50).

Tabla 8-1: Protocolo del proceso de congelación de semen ovino.

Proceso	Tiempo	Temperatura
Pre-dilución 1:1 (diluyentes más semen extraído)	45 minutos	T° Ambiente
Dilución total (pre-dilución + diluyente sobrante)	10 min	T° Ambiente
Enfriamiento	3 horas	A 5°C
Pajillas 0,5 ml (vapores de nitrógeno)	10 min	-25 °C
Congelado	Indefinidamente	-196° C

Realizado por: Chunata Mantilla Shirley 2019.

1.10.3. Congelación del semen

El semen del carnero se puede congelar empleando la metodología convencional (congelación lenta) o la metodología rápida (congelación rápida) pudiendo emplearse para el efecto pajuelas de plástico, ampollitas o pellets; el semen congelado con la metodología rápida mejora la supervivencia de los espermatozoides (Evans *et al.*, 1990 citado por Valdez, 2013, p.24)

El plasma seminal no contiene las sustancias suficientes para mantener la viabilidad del eyaculado por largos períodos de tiempo por lo que es imprescindible la adición de agentes crio-protectores que prolonguen la vida de las células espermáticas destinadas a inseminación artificial (Illera, 1994, citado por Valdez, 2013, p.24)

Para congelar las pajuelas se debe dejar un pequeño espacio de aire en ellas (en el extremo por donde se llenan) para evitar que se rompan al congelarse. Las pajuelas que contengan semen

líquido, en un solo paso (a 30°F) se enfrían a 5°C entre 1,55 y 2,0 horas y luego se congelan. (Duran et al., 2008, p. 297).

1.10.3.1. *Daños que sufren los espermatozoides durante el proceso de congelación*

La calidad del semen congelado disminuye con respecto a la del semen fresco o refrigerado, por una parte, porque aproximadamente un 50 por ciento de los espermatozoides no sobreviven al proceso de crioconservación y porque durante este proceso los espermatozoides van a sufrir alteraciones ultra estructurales (cambios en la estructura de las bicapas lipídicas de las membranas tanto plasmáticas como de los orgánulos), bioquímicos (ralentización metabólica) y funcionales ((Curry, 2000., citado por Castillo, 2017, p.12).

Estos daños se acompañan de transporte deteriorado, reducción de la supervivencia de los espermatozoides en el tracto reproductivo femenino y disminución de la fertilidad (Salamon y Maxwell, 2000). Estos daños se deben básicamente a cambios osmóticos y a la formación de cristales de hielo intracelular (Holt, 2000., citado por, Castillo, 2017, p.12).

1.10.4. *Conservación del semen*

Cuando el semen se congela y se conserva a muy baja temperatura, esto es en nitrógeno líquido a -196 °C, las reacciones metabólicas de los espermatozoides quedan detenidas. Por tanto, el semen se puede recoger y conservar en épocas distintas a la estación reproductora y conservar durante mucho tiempo, lo cual permite la supervivencia de genes para futuro uso y se asegura la disponibilidad de un semental en particular (Duran, 2008, p. 292).

1.10.5. *Descongelamiento del semen*

La descongelación del semen es un punto muy crítico. Aparte de las amenazas por congelación, los espermatozoides también se pueden lesionar si el proceso de descongelación no se lleva a cabo de una forma apropiada. No existe medios técnicos para medir el grado y proporción de lesiones que se puedan derivar a causa de los procesos de congelación y descongelación de los espermatozoides (Duran et al., 2008, p. 298).

El semen de carnero congelado en pajuelas se puede descongelar retirando las pajuelas del nitrógeno líquido e introduciéndolas en agua a una temperatura no inferior a 37°C. la descongelación a temperaturas superiores puede mejorar la recuperación de espermatozoides viables, pero existe el peligro de la exposición del seme a temperaturas por encima del nivel crítico, que puede ser fatales para las propias células (Duran et al., 2008, p. 298).

Si el congelamiento del semen se realizó en pajuelas, las mismas se sumergirán en un baño termostático a 36 °C, moviéndolas con una pinza durante 15 segundos bajo el agua. Luego de su descongelamiento, la pajuela se sacará del agua, procediéndose al secado y cortado del tapón del extremo con cámara de aire. El extremo libre se tapa con un dedo antes de cortar el otro extremo y se destapa al momento de vaciar el contenido de la pajuela en un tubo de hemólisis previamente colocado en baño termostático (Cueto et al., 2016).

El descongelamiento rápido es necesario para prevenir la recristalización de cualquier cristal de hielo intracelular presente en el espermatozoide (Sandoval, 2005, p.25).

1.10.6. Examinación post- descongelación

La estimación de la calidad del semen descongelado es de suma importancia. Se procederá a la evaluación de al menos dos pajuelas o pastillas por partida. Es importante realizar varias observaciones de la misma pajuela o pastilla. Luego de su descongelamiento, se procederá a la examinación microscópica de una gota de semen en un portaobjeto templado (100 aumentos) sobre platina térmica. Se observará la motilidad masal al descongelamiento, repitiendo la observación 1 o 2 veces (Cueto et al., 2016, p. 16).

Se observará una gota de 5 a 10 microlitros de semen descongelado entre porta y cubreobjetos templados. En esta evaluación es importante estimar el porcentaje de espermatozoides vivos, así como la motilidad individual progresiva. La motilidad individual progresiva se estima como la velocidad de desplazamiento hacia adelante de los espermatozoides vivos en una escala subjetiva entre 0 y 5 (0, mínimo; 5, máximo) (Cueto et al., 2016, p. 17).

Para aceptar una pajuela debe constar en su evaluación:

- Motilidad masal al descongelamiento.
- Un porcentaje de espermatozoides vivos igual o superior al 30%.

- Motilidad individual progresiva igual o superior a 2.5 (Cueto et al, 2016, p. 17).

1.11. Valoración del espermatozoide congelado-descongelado

La fertilidad del semen congelado-descongelado se relaciona con la motilidad, viabilidad, ultraestructura y cambios bioquímicos del espermatozoide congelado-descongelado. Sin embargo, las pruebas de laboratorio básicas para evaluar el semen criopreservado son la motilidad, viabilidad e integridad de las membranas: plasmática y acrosomal (Valdez, 2013, p. 31).

1.11.1. Motilidad y viabilidad

La motilidad es el análisis más simple de realizar, se basa en la visualización de ondas de movimiento espermático observadas al microscopio en un portaobjetos a 37°C luego de descongelar el semen apropiadamente. Para el indicativo de viabilidad de los espermatozoides, el análisis de motilidad se debe realizar a intervalos de una y dos horas después de descongelado el semen en una muestra de 0,5ml incubada a 37°C. Los eyaculados de carnero se consideran adecuados para su conservación y uso en inseminación artificial si el porcentaje de espermatozoides con movimiento progresivo no es menor del 40% al descongelarlos y de 30% después de terminado la prueba de viabilidad (Evans, et al., 1990 citado por Valdez, 2013, p. 31)

CAPÍTULO II

2. MARCO METODOLÓGICO

2.1. Localización y duración del experimento

El trabajo experimental de la presente investigación se desarrolló en la Estación Experimental Pastaza perteneciente a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo- Facultad de Ciencias Pecuarias; ubicada en el kilómetro 32 vía al Puyo- Macas, Parroquia Simón Bolívar. El trabajo experimental de campo tuvo una duración de 90 días aproximadamente.

Posteriormente evaluaciones del trabajo de laboratorio se realizaron en el Laboratorio de Reproducción Animal e IA de la Facultad de Ciencias Pecuarias.

2.1.1. Condiciones meteorológicas

Las condiciones meteorológicas donde se llevó a cabo la investigación experimental se detallan a continuación.

Tabla 1-2: Condiciones meteorológicas de la Estación Experimental Pastaza.

Parámetros	Promedio de los tres últimos años
Temperatura °C	21
Precipitación (mm)	4000
Clima	Cálido húmedo
Altitud	950 msnm

Fuente: (Pastaza, Naturaleza en su máxima expresión. 2013 citado por Coloma, R. 2018).

2.2. Unidades experimentales

Para el desarrollo de la presente investigación se utilizó un total de dos ovinos machos adultos de las razas tropicales Black Belly y Pelibuey, con una edad promedio de 31 meses, y un peso aproximado 73 a 75 kg. Los mismos que pertenecen a la Estación Experimental Pastaza.

2.3. Materiales, equipos e instalaciones

2.3.1. *Materiales*

- Cuaderno de apuntes, esfero
- Cámara fotográfica
- Botas de caucho, mandil
- Soga, jáquima
- Guantes quirúrgicos
- Caja de papel aluminio
- Gel lubricante
- Jeringuillas 5ml y 1ml descartables
- Cinta métrica
- Porta-Cubre objetos
- Tubos de microcentrífuga (2 ml)
- Tubos de centrifuga (14 ml)
- Diluyentes (Andromed- One step)
- Puntas de micropipeta
- Nitrógeno líquido
- Cooler

- Pajillas de semen 0,5 ml

2.3.2. *Equipos*

- Electroeyaculador
- Microscopio
- Baño María
- Micropipeta
- Placa calefactora
- Calculadora
- Computadora

2.3.3. *Medicamentos*

- Vitaminas (ADEVET)
- Desparasitante (Ivermectina 1%, Febendazol)

2.3.4. *Instalaciones*

Se utilizó las instalaciones disponibles en la Estación Experimental Pastaza junto con el Laboratorio de Reproducción Animal e IA de la Facultad de Ciencias Pecuarias.

2.4. Tratamiento y diseño experimental

Las características del semen se evaluaron en dos momentos, antes y después del proceso conservación. El semen fresco se evaluó utilizando estadística descriptiva para las variables cualitativas y para las variables cuantitativas t de student.

En el segundo momento cuando se analizó el semen congelado se aplicó un diseño completamente al azar con arreglo combinatorio, en donde el Factor A es la raza (A1: Pelibuey y A2: Black Belly) y el Factor B los diluyentes (B1: Andromed y B2: One step) y la interacción (A1B1: Pelibuey - Andromed; A1B2: Pelibuey - One step; A2B1: Black Belly - Andromed y A2B2: Black Belly - One step), donde el tamaño de la Unidad Experimental se consideró una extracción, es decir, se trabajó con 4 repeticiones por tratamiento, dándonos un total de 16 unidades experimentales.

Ecuación 1-2

$$Y_{ij} = \mu + A_i + B_j + AB_{ij} + E_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} : Valor estimado de la variable.

μ : Media general

A_i : Efecto de las razas ovinas

B_j : Efecto de los diluyentes comerciales

AB_{ij} : Efecto de la Interacción entre razas ovinas y diluyentes comerciales.

E_{ij} : Error experimental.

2.4.1. Esquema del experimento

El diseño del análisis de varianza que se utilizó se describe a continuación. Tabla 2-2.

Tabla 2-2: Diseño experimental.

TRATAMIENTOS		CÓDIGO	REP.	TUE	TOTAL
FACTOR A	FACTOR B				
RAZA 1. Pelibuey	ANDROMED	A1B1	4	1	4
	ONE STEP	A1B2	4	1	4
RAZA 2. Black Belly	ANDROMED	A2B1	4	1	4
	ONE STEP	A2B2	4	1	4
TOTAL					16

Realizado por: Chunata, Shirley 2019.

2.5. Mediciones experimentales

2.5.1. *Semen fresco*

- Color
- Olor
- Ph
- Volumen (ml)
- Motilidad masal (%)
- Motilidad individual (puntos)
- Concentración espermática (spz/ml)
- Células vivas-muertas (%)

- Morfología

2.5.2. *Post-descongelación*

- Motilidad masal (%)
- Motilidad individual (puntos)
- Viabilidad espermática (%)

2.6. **Análisis estadísticos y pruebas de significancia**

Los resultados experimentales que se obtuvieron fueron sometidos a los siguientes análisis estadísticos:

- Prueba T-student
- Análisis varianza (ADEVA)
- Separación de medias tukey ($p \leq 0,05$).

Tabla 3-2: Esquema del ADEVA.

Fuentes de variación	Grados de libertad
Total	15
Factor A	1
Factor B	1
Interacción (AxB)	1
Error experimental	12

Fuente: Chunata, Shirley 2019

2.7. Procedimiento experimental

En la presente investigación se evaluó la calidad seminal de dos machos reproductores de razas tropicales, su estudio fue antes de la congelación y después de la congelación con la adición de dos tipos de diluyentes comerciales (Andromed y One step) en pajuelas de 0,5 ml, para obtener este resultado se procedió a tomar en cuenta lo siguiente.

2.7.1. Selección de los carneros

Los criterios de selección de los machos reproductores para la presente investigación se realizaron tomando en cuenta los siguientes parámetros:

- Mayor de 2 años de edad.
- Con una condición corporal de 3 a 4 puntos, en escala de 1 a 5
- Simetría testicular, libre de anormalidades
- Circunferencia escrotal >30 cm
- Semovientes aparentemente sanos, libre de parásitos.

2.7.2. Preparación de machos

La preparación de los machos consistió en separar los dos machos de las hembras, desde el inicio del trabajo de campo hasta su culminación, el objetivo de este procedimiento es incrementar la libido del animal, ayudar en el desarrollo espermático y la recuperación corporal que se pierde cuando el macho da monta.

Se colocó a los machos en un corral bajo sombra provisto de alimento que consistió en pasto picado, balanceado y agua a voluntad; además se suplemento el pasto con la adición de sales minerales ya que las mismas contienen Se, P, Mg, etc. Favorecen en el proceso de espermatogénesis del macho. Se procedió a suministrar 15g/día, pesando esta cantidad en una balanza analítica.

En la preparación de los machos también incluyó la desparasitación y vitaminización de los mismos antes de la extracción, para lo cual se tomó el peso de los dos machos con una cinta bovinométrica con un margen de error en ovinos ± 2 kg, obteniendo un peso promedio en el macho Pelibuey de 75 kg y en el Black Belly de 73 kg.

Se desparasitó con ivermectina al 1% por vía S.C con una dosis de 1,5 ml, además se complementó con desparasitante oral Febendazol 4ml por cada uno, se recomendó la desparasitación cada 3 meses.

Además, se vitaminizó a los machos con vitaminas AD3E, de acuerdo a la dosificación se aplicó 1ml por vía intramuscular.

2.7.3. *Pruebas de extracción del semen con electroeyaculador*

El acondicionamiento de los dos machos para que eyaculen mediante la utilización del electroeyaculador empezó 4 semanas antes de la primera colecta de semen, para lo cual se procedió a someter a los machos con este método, extrayendo 1 vez cada semana con el objetivo de acondicionar a los mismos a este procedimiento.

Previamente a la extracción del semen de los machos se procedió a limpiar la zona prepucial cortando con una tijera los pelos largos que se encontró en el mismo, de esta forma se evita la contaminación de la muestra, posteriormente se hizo un lavado con agua potable y después con agua destilada todo el vientre del animal y más aún cerca del miembro de tal forma tener una zona limpia.

Es importante el lavado interno para ello se exprimió el pene del macho con ligeros movimientos de atrás hacia adelante con la finalidad de eliminar sustancias contaminantes contenidos en el pene y la orina del mismo, se lavó con una solución salina en este caso se utilizó lactato de ringer, con una jeringuilla de 10ml se colocó esta sustancia dentro del pene y se evacuó el contenido; con la ayuda de las toallitas absorbentes de seco bien la parte del pene y la zona del vientre. Este procedimiento se realizó antes de cada extracción seminal.

Una vez realizado la limpieza corporal se precedió a instalar el equipo de electroeyaculación, se introdujo al macho a un cuarto limpio, seco y cerca de la mesa de estudio, con la ayuda de los dedos índice y medio se introdujo en el recto y se extrajo el material fecal a la vez se indujo a la excreción para que no haya taponamiento a la hora de introducir la sonda.

Se colocó la sonda previamente lubricada ubicando los electrodos hacia abajo dando movimientos rotatorios hasta que, entre toda la sonda por el recto, la misma que tiene por función, dar impulsos eléctricos en las paredes del recto de forma secuencial así va estimulando a la eliminación del semen.

Se recomienda que el carnero se encuentre en una posición decúbito lateral para que la recolección sea fácil, al momento que desenvaine el pene dejar escapar una pequeña cantidad de secreción ya que se considera que es líquido seminal, es decir no hay presencia de espermatozoides, después se introdujo el mango en el pene y se espera que eyacule. Este procedimiento se realizó durante cada extracción.

2.7.4. Evaluación y procesamiento del semen

Previamente a la extracción del contenido seminal, se preparó todo el equipo y materiales que se utilizaron en la investigación, estos fueron lavados con agua destilada, desinfectados y secados totalmente, se trabajó en un ambiente seco y limpio.

Se adecuo el mango colector de semen, con la bolsa de plástico adjunto con un tubo de centrifuga de 14ml limpios y secos, los mismos que fueron forrados con papel aluminio con el fin de que no penetre la luz del ambiente y este actué como espermatocida.

Preparación de los diluyentes para congelación:

2.7.4.1. Andromed

Preparar 10 ml de diluyente, utilizamos lo siguiente:

Tabla 4-2: Dilución 4:1 con el diluyente Andromed.

Materiales	Cantidad (ml)
Andromed	8
Agua destilada	2

Realizado por: Chunata Mantilla Shirley 2019.

2.7.4.2. *One step*

Este diluyente se agregó yema de huevo fresca y antibiótico.

Tabla 5-2: Dilución 5:1 con el diluyente One Step.

Materiales	Cantidad (ml)
One step	2
Agua destilada	7,5
Yema de huevo	0,5
Antibiótico	0,2

Realizado por: Chunata Mantilla Shirley 2019.

2.7.4.3. *Evaluación del semen*

Una vez que se extrajo el semen en el tubo, se evaluó el olor, color y el volumen de forma subjetiva esto se valoró de forma rápida; posteriormente se introdujo la muestra en el baño maría a una temperatura de $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, simulando a la temperatura corporal del animal, se procedió a evaluar el pH con tiras de papel tornasol; con la ayuda de la micropipeta se extrajo 30 μl de cada muestra y se colocó en un tubo de eppendorf previamente identificado para ser evaluado.

Se preparó la primera pre-dilución en relación 1:1, es decir del total de la muestra fue dividida a la mitad para el diluyente Andromed y mitad para el diluyente One step, se lo mantuvo durante 45 minutos a temperatura ambiente, con la finalidad del acondicionamiento del semen con cada uno de los diluyentes, en vasos de precipitación identificándose cada muestra.

En la placa calefactora que esta adecuada al microscopio fue manejada a una temperatura de $37,5^{\circ}\text{C}$, la mismas que se ubicó los porta-cubreobjetos y las puntas de micropipeta con el fin de adecuar a la temperatura del cuerpo del animal, una vez adecuada la temperatura se procedió a la evaluación de las muestras, tomando 10 μl del semen se colocó en el porta objetos y sobre este el cubre objetos, se valoró la motilidad masal con el lente 100X y la motilidad individual con el lente 400X.

Posteriormente se preparó una solución 1:400, donde se colocó en un tubo de eppendorf 2 ml de agua fisiológica al 1%, junto con 5 μl de semen mezclando homogéneamente, para el cálculo de

la concentración espermática se colocó 5µl de la dilución en el primer y segundo campo de la cámara de Neubauer, posteriormente se colocó el cubreobjetos y se procedió a su cálculo.

Para la evaluación de células vivas-muertas y la morfología se preparó una placa, donde se colocó 5µl en la parte superior de la placa seguido de 5µl del reactivo eosina-nigrosina, para la inmovilización del material genético, con la ayuda de otra placa se fijó en un ángulo de 45° hasta que se mezcle bien el semen con el reactivo, se procedió hacer un barrido, de forma homogénea, dejar secar la placa, una vez seca se procedió evaluar células vivas-muertas y la morfología con el lente de aumento de 400X.

2.7.4.4. *Procesamiento de semen*

Una vez evaluado la concentración espermática de los ovinos, se procedió al cálculo del número de dosis, utilizando la siguiente fórmula.

Ecuación 2-2

$$N^{\circ} \text{ de dosis} = \frac{Ox \frac{Vol}{Eyac. deseado}}{200}$$

Dónde:

()= concentración espermática

Vol= Volumen del eyaculado deseado

200= número de espermatozoides/ eyaculado 10^6 en pajuelas 0,5 ml

Además, se calculó el dilutor total, para ello se aplicó la siguiente fórmula.

Ecuación 3-2

$$Dilutor = \# \text{ siembra} \times Vol. \text{ dosis} - Vol. \text{ Eyaculado}$$

Con la utilización de esta fórmula se calculó, la cantidad de volumen total del diluyente que se le adiciono a la pre-dilución, una vez hecha la dilución total se dejó reposar por 10 min a temperatura ambiente, se tomó una muestra de 10 µl para observarla en el microscopio esta, presento más del 80% de movilidad masal, siendo apta para el proceso de refrigeración.

En el proceso de refrigeración se colocó las muestras (A1B1, A1B2; A2B1, A2B2) previamente identificadas en refrigeración a 5°C durante 3 horas, transcurrido este tiempo se procedió a preparar las pajuelas de 0,5 ml dentro de la refrigeradora para controlar la temperatura. La forma de identificación fue seleccionar pajuelas de diferentes colores para que sea fácilmente identificable.

Se tomó la pajuela y se absorbió levemente hasta llenar la pajuela con la ayuda de una jeringuilla de 1ml, se absorbió una pequeña cantidad con la finalidad dejar una burbuja de aire en la pajuela, esto evita que al momento de ingresar a congelación esta explote, se selló con alcohol polivinílico posteriormente se colocó en el agua refrigerada a 5°C. Se realizó el mismo procedimiento con todas muestras.

2.7.5. Congelación

Se realizó de manera convencional dentro de en un cooler siguiendo el siguiente proceso:

- a) Se colocó el nitrógeno líquido en el cooler a una altura de 2cm por un tiempo estimado de 2 minutos bien sellado, con el objetivo que este se acondicione.
- b) Se colocó dentro del cooler dos portas pajuelas, ajustándole a una altura de 6cm, bien sellado alrededor de 1 min, verificar que la altura del nitrógeno líquido sea de 2cm, mediante la utilización de una regla.
- c) Abrir la tapa y colocar las pajuelas elaboradas en la porta pajuelas a una altura de 6cm durante un tiempo estimado de 4 minutos.
- d) Transcurrido este tiempo se disminuyó la altura a 4cm donde se controló por un tiempo estimado de 6 minutos.
- e) Culminado este tiempo se colocó directamente las pajuelas al nitrógeno líquido alrededor de 2 minutos, posteriormente se colocó en el termo de nitrógeno ya identificadas por el número de extracción. Se realizó este proceso en todas las extracciones posteriores.

2.7.6. *Descongelación*

La post-descongelación se realizó 15 días después de haber congelado las pajuelas, se descongeló a una temperatura de 37, 5°C; es decir.

- a) Se tomó una pajuela y se colocó en el baño maría a una temperatura de 37,5°C alrededor de 1 min, con una toalla absorbente se secó y se la protegió de los rayos solares.
- b) Con la ayuda del cortapajuelas se cortó primero el extremo donde este sellado con el alcohol polivinílico se colocó la pajuela boca abajo en el tubo de eppendorf.
- c) Y se cortó el otro extremo, de tal forma que todo el contenido cayo dentro del tubo.
- d) Se tomó 10µ de la muestra, colocándola en la placa calefactora a 37,5 °C y se procedió a evaluar en el microscopio: la motilidad masal (%), motilidad individual (pts) y viabilidad (%).

La evaluación post- descongelación consistió en evaluar una pajuela por cada una de las muestras (A1B1, A1B2; A2B1, A2B2).

2.7.7. *Costo por tratamiento*

Se analizó el costo unitario de producción de cada pajuela de 0,5 ml, tanto de la raza Black Belly como de la raza Pelibuey.

2.8. Metodología de evaluación

2.8.1. *Reproductor*

2.8.1.1. *Circunferencia escrotal*

Las medidas se tomaron utilizando una cinta métrica, los datos que se obtuvieron son comparados con los valores normales de la especie dependiendo su edad. Ver tabla 5-1.

2.8.1.2. *Condición corporal*

Se evaluó de forma subjetiva, observando en primer lugar el estado dentario para verificar la edad, posteriormente su evaluación fue fenotípica, se realizó de dos formas, observación de pie: vista de frente, vista de perfil (columna vertebral, línea ventral), vista de atrás y vista de arriba; y la observación sentado: revisión de la cabeza, revisión del aparato reproductor (tabla 4-1) (Peña, 2019, p. 13).

2.8.2. *Semen fresco*

2.8.2.1. *Color*

Se procedió simplemente a valorar por la observación directa.

2.8.2.2. *Olor*

Su valoración fue por olfateo directo.

2.8.2.3. *Potencial de hidrógeno (pH)*

Medida con tiras de papel tornasol. Después de la colecta del semen, se procedió a valorar el pH del semen en el tubo de recolección con la ayuda de una pinza, previamente limpia, desinfectada y seca.

2.8.2.4. *Volumen, (ml)*

Su medida fue en un tubo de centrifuga (graduado), de capacidad de 14 ml.

2.8.2.5. *Motilidad masal, (%)*

Para evaluar la motilidad masal, con la ayuda de la micropipeta se tomó 10µl de la muestra, posteriormente se colocó en el portaobjetos y se observó al microscopio con el lente 100X, el método de evaluación fue subjetiva, guiándose de las ondas de movimiento de los espermatozoides que aprecian el porcentaje de espermatozoides móviles. Ver Tabla 6-1

2.8.2.6. *Motilidad individual, (puntos)*

En la misma muestra que se utilizó para evaluar la motilidad masal, se puede evaluar la motilidad individual, en el microscopio con el lente 400 X, el método de evaluación depende de la agilidad del observador, que consiste visualizar la velocidad progresiva de desplazamiento hacia delante de los espermatozoides vivos, teniendo una calificación como mínimo 0, y como máximo 5 puntos. Ver tabla 7-1.

2.8.2.7. *Concentración espermática, (spz/ml)*

Se utilizó el método de conteo en la cámara de Neubauer, donde se procedió a realizar la dilución 1:400 del semen con agua fisiológica, quiere decir que por 2ml de agua fisiológica al 1%, se agregó 5µl de semen, con la ayuda de la micropipeta se mezcló homogéneamente.

Se limpió bien la cámara de Neubauer y se procedió agregar 10µl de la muestra en los dos bordes de cada cuadrante posteriormente se colocó el cubreobjetos, verificar que la cámara no presente burbujas de aire, de ser el caso debe preparar nueva muestra.

La muestra fue observada al microscopio con el lente de 100X para facilitar el enfoque y observar la cuadrícula, una vez identificado se puede realizar el conteo respectivo o a la vez se puede utilizar el lente 400X, para una mejor apreciación, se procede a contar los 5 cuadrados de cada uno de los cuadrantes, preferiblemente que sean los cuadrados externos y el central.

La concentración espermática se calculó a través de esta fórmula, (Cueto,2016, p.10)

$$CE = \frac{\text{suma de los esp. en los 5 cuadrados} \times 400 \times 16}{5}$$

2.8.2.8. Células vivas-muertas, (%)

Para observar los espermatozoides vivos - muertos se realizó un frotis donde, en un porta objetos se colocó 5 µl de semen en la parte superior de la placa y posteriormente se colocó 5µl de eosina-nigrosina, la misma que tiene la función de teñir la célula que presenta daño en la membrana; con la ayuda de otra placa se coloca sobre la muestra aproximadamente en un ángulo de 45° y se realiza un frotis de tal manera que se forme una delgada película homogénea, esperar que se seque puede tomar 5-8 minutos o colocarla sobre la placa calefactora.

El frotis fue observado al microscopio con el lente 400X, en la cual se observó 5 campos de los cuales cada campo constaba de 20 espermatozoides, se procedió a utilizar la siguiente formula.

$$\% \text{ Celulas vivas} = \frac{\text{Suma de los 5 campos (spm vivos)}}{100} \times 100$$

$$\% \text{ Cèlulas muertas} = \frac{\text{Suma de los 5 campos (spm muertos)}}{100} \times 100$$

2.8.2.9. Morfología, (%)

Para la valoración morfológica se utilizó la misma placa de la valoración de células vivas-muertas y adicionalmente se elaboró un segundo frotis, la presente muestra se observó con el lente de aumento de 1000X, utilizando aceite de inmersión, que consiste en agregar una gota de aceite en el centro de la placa y valorar con el lente descrito, se observó 5 campos de los cuales cada campo constó de 30 espermatozoides, se evaluó el porcentaje de espermatozoides normales frente al porcentaje de espermatozoides anormales tanto en la cabeza y cola principalmente (Grafico 2-1)

$$\% \text{ spm anormales} = \frac{\text{suma de los 5 campos (spm anormales)}}{120} \times 100$$

$$\% \text{ spm normales} = 100\% - \% \text{ spm anormales}$$

2.8.3. *Post-descongelación*

Se descongelo a 15 días posteriores a la congelación, que consistió en colocar la pajuela en el baño maría a una temperatura 37.5°C por un tiempo de 20-30 segundos, posteriormente se secó con una toalla absorbente y se la protegió de los rayos solares, con un cortapajuelas se cortó el primer extremo donde se encuentra el alcohol polivinílico y se colocó boca abajo, en un tubo de eppendorf previamente calentado en la placa térmica, después se cortó el otro extremo y la muestra cayo por efecto de la gravedad, se tomó 10 µl de muestra y se procedió a evaluar lo siguiente.

2.8.3.1. *Motilidad masal, (%)*

Se valoró mediante las ondas de movimiento de los espermatozoides tomando a consideración los criterios de (Cueto et al, 2016, p. 16), para la evaluación del semen después de la congelación, se evaluó un total de 48 pajuelas, en decir 3 por cada tratamiento (A1B1, A1B2; A2B1, A2B2) y por 4 que fueron el número de repeticiones.

2.8.3.2. *Motilidad individual, (puntos)*

La motilidad individual progresiva se evaluó de forma subjetiva donde se estima la velocidad de desplazamiento de los espermatozoides hacia adelante, en la evaluación post-descongelación se estimó que es mucho más baja su valoración en comparación a la valorada antes de la congelación,

esto se debe a diferentes factores como puede ser el shock térmico u otros factores, para su estimación se utilizó una escala subjetiva de 0 y 5 (0 es mínimo y 5 es máximo). Ver tabla 7-1

2.8.3.3. *Viabilidad espermática (%)*

Para la estimación de porcentaje de viabilidad se realizó un frotis con eosina-nigrosina, descrita anteriormente en el texto, donde se tomó 5µl de semen de cada pajuela correspondiente a cada tratamiento (A1B1, A2B1; A2B1, A2B2) y 5 µl del reactivo, se procedió a ejecutar la muestra.

Esta se observó en el lente inmersión con aumento de 1000X con la adición de aceite de inmersión, se evaluó un total 16 placas, es decir 1 placa por cada tratamiento (A1B1, A1B2; A2B1, A2B2) y por 4 repeticiones.

CAPÍTULO III

3. MARCO DE RESULTADOS, DISCUSIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADO

3.1. Evaluación de las características macroscópicas del semen de los carneros de raza Pelibuey y Black Belly.

3.1.1. Color

La coloración que presentaron los eyaculados del ovino Pelibuey en las cuatro extracciones seminales tuvo una coloración blanco lechoso (BL), como se indica en la tabla (tabla 1-3), en cambio el ovino Black Belly en las cuatro extracciones presentó una coloración seminal blanco cremoso (BC) (tabla 2-3). Estos resultados se evaluaron de forma subjetiva, es decir, directamente con la apreciación visual.

Tabla 1-3: Evaluación seminal macroscópica de los eyaculados de carneros Pelibuey.

Característica	Promedio	DS
Número de eyaculados	4	-
Color	Blanco lechoso	-
Olor	Sui generis	-
Ph	7	0,0

DS: Desviación estándar

Realizado por: Chunata, Shirley 2019

Tabla 2-3: Evaluación seminal macroscópica de los eyaculados de carneros Black Belly.

Características	Promedio	DS
Número de eyaculados	4	-
Color	Blanco cremoso	-
Olor	sui generis	-
Ph	7	0,0

DS: Desviación estándar

Realizado por: Chunata Mantilla Shirley 2019.

Respecto a los resultados obtenidos Cueto et al., (2016) en el manual de obtención, procesamiento y conservación del semen ovino, manifiestan que el color del semen en los ovinos debe ser blanco-lechoso o cremoso pálido, aunque también puede tomar una coloración blanquecina-amarillenta, siendo las mismas predictoras de una muestra seminal de buena calidad teniendo a su vez una relación directa entre la intensidad del color y la riqueza espermática.

Además, Duran et al., (2008), menciona que el semen del carnero normalmente es de color blanco lechoso o crema pálido, pudiendo variar de unos eyaculados a otros, aun del mismo semental, siendo estas son características propias de cada especie.

Los resultados obtenidos son similares a los reportados por Avilés (2018), quien al realizar estudios sobre las características del semen en diferentes razas de Ovinos determinó que la coloración presente en las muestras seminales de las razas, Black Belly, Pelibuey, Charoláis, Kathadin y Dorper, presentaron una tonalidad del 100% blanco cremoso en todas las razas.

3.1.2. Olor

Las muestras seminales provenientes de los ovinos Pelibuey y Black Belly, en la investigación presentaron un olor sui generis o proteico neutro característico de la especie, como se indica en las tablas.

Resultados que son similares a los obtenidos por Avilés (2018), quien reportó un olor sui géneris en las muestras seminales evaluadas para el estudio sobre las características del semen en diferentes razas de Ovinos.

Al igual que Escudero (2015), quien al realizar preservación de semen ovino mediante vitrificación y congelamiento lento, utilizando diferentes diluyentes comerciales reportó un olor proteico neutro característico en el semen de esta especie, libre de olores desagradables que podrían ser provocados por contaminación bacteriana.

3.1.3. Potencial de hidrógeno, (pH)

Al realizar el análisis del pH en el semen ovino de las muestras recolectadas, provenientes de las razas Pelibuey y Black Belly, reportaron promedios de 7 ± 0 , siendo este un pH neutro, considerándose que no hubo diferencias significativas en los eyaculados de cada raza.

El pH seminal de la especie ovina distintamente del propósito zootécnico de cada una de las líneas genéticas es por general neutro a levemente alcalino, que tiene el objetivo de neutralizar la acidez que se encuentra en el tracto reproductivo de la hembra, los valores pueden ser alterados por tiempo de almacenamiento y método de recolección del semen, además este es indicativo de un material seminal adecuado, ya que si se hubiera detectado valores mayores o inferiores (alcalino - ácido) se considera como semen de escasa fertilidad y baja concentración y motilidad, tal como lo reporta (Evans y Maxwell 1990 citado por Orellana, 2009).

Los resultados obtenidos son similares a los reportados por Cabrera (2010), quien registró en su investigación un pH neutro, utilizando la misma metodología del presente estudio, para la valoración de este parámetro. Por otro lado, Tapia (2018), al realizar la Valoración Seminal en Ovinos de Raza Corriedale y Mestizos registró para los dos valores de 7 en cuanto al pH de las muestras seminales.

3.1.4. Volumen, (ml)

Al realizar el análisis de la variable volumen seminal, se registraron diferencias significativas ($P < 0,05$), entre las medias de los tratamientos, alcanzando el valor más alto de 1,83 ml para las muestras seminales del carnero Pelibuey; a diferencia del volumen seminal reportado en las muestras del reproductor perteneciente a la raza Black Belly, con un valor de 1,43 ml, como se indica en la tabla (3-3) y en el gráfico (1-3).

Tabla 3-3: Evaluación del volumen seminal de los carneros Pelibuey y Black Belly.

Variable	Tratamientos		E.E.	C.V. (%)	Prob.	Sig.
	Black Belly	Pelibuey				
Volumen semen, ml	1,43 b	1,83 a	0,09	10,51	0,0162	*

E.E.: Error Estándar

C.V.: Coeficiente de Variación

aa: Letras iguales no existe diferencias significativas

ab: Letras distintas existe diferencias significativas ($P < 0,05$)

Realizado por: Chunata Mantilla Shirley 2019.

Con respecto a los resultados obtenidos en la presente investigación Cueto et al., (2016), indican que en promedio el carnero tiende a eyacular una cantidad de semen que oscila entre 0,75 a 2 ml, además esto va a variar por factores como la edad del semental, condiciones climáticas, raza, la adaptación del semental, frecuencia de extracción del semen e incluso por la habilidad del técnico.

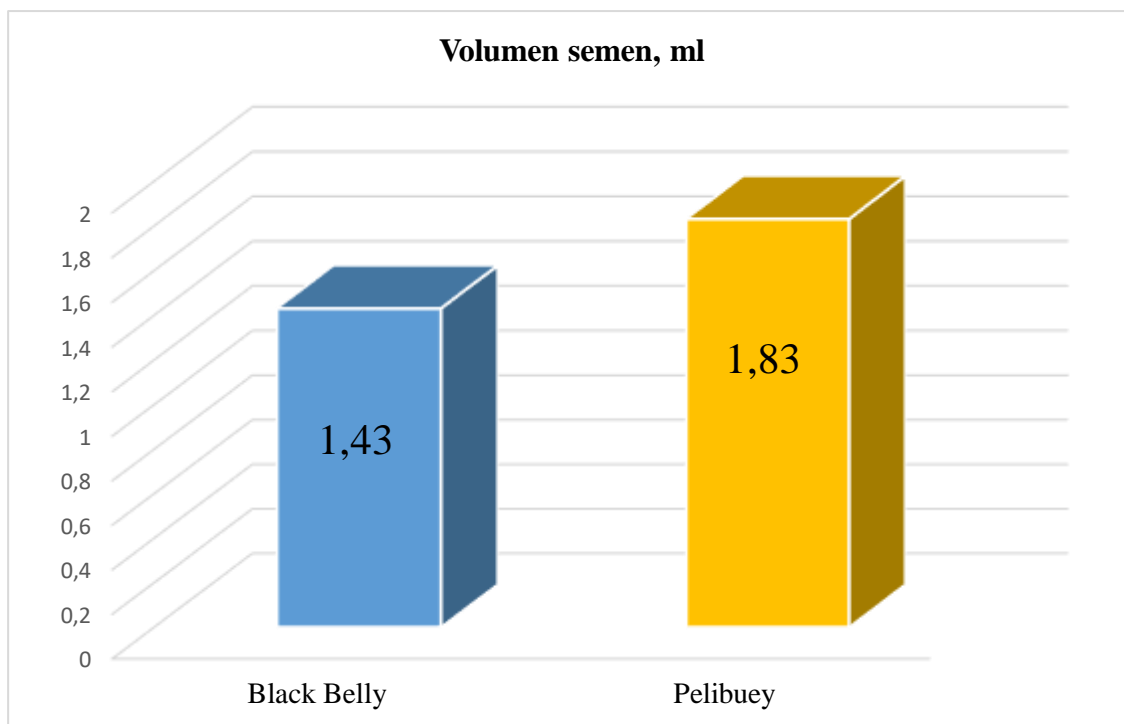


Gráfico 1-2: Volumen seminal de las muestras del semen ovino de las razas Black Belly y Pelibuey.

Realizado por: Chunata Mantilla, Shirley 2019.

López (2016), en el estudio del efecto de la raza, edad y época sobre la capacidad reproductiva del carnero con machos Pelibuey en edad promedio de 34 meses, determinaron volúmenes de eyaculados de $0,48\text{ml} \pm 0,30$, bajo condiciones del trópico, al igual que Avilés (2018) en ovinos Pelibuey reportó un volumen de $1,51 \pm 0,37$ ml, siendo estos valores similares a los obtenidos en el presente estudio.

Los resultados expuestos anteriormente son superiores a los obtenidos por Guerrero et al., (2009), quien al estudiar el uso de dilutores hipertónicos en la crioconservación del semen ovino de la raza Black Belly de 2 a 3,5 años de edad en el Valle de Lima, reportó valores promedios de $1,1 \pm 0,1$ ml.

Además, Orellana (2009), quien al evaluar Características Seminales e Integridad de la Membrana Espermática Post Refrigeración en carneros Black Belly con una edad aproximada de 3,5 años estimados, presento un volumen de eyaculado de $1,43 \text{ ml} \pm 0,58$, siendo estos valores similares a los obtenidos en la Estación Experimental Pastaza.

3.2. Evaluación de las características microscópicas del semen de los carneros de razas Pelibuey y Black Belly.

3.2.1. Motilidad masal, (%)

La valoración microscópica de la motilidad masal, en las diferentes observaciones realizadas no registro diferencias estadísticas ($P>0,05$), entre las medias de los tratamientos, obteniendo el 91,25 %, para las muestras seminales del carnero Pelibuey, mientras que en los eyaculados del carnero Black Belly se presentó una media de 95,25 %. Como se indica en la tabla (4-3).

Tabla 4-3: Evaluación microscópica de los eyaculados pertenecientes a los carneros Pelibuey y Belly antes de ser sometidos a dilución para su posterior conservación.

Variable	Tratamientos				E.E.	C.V. (%)	Prob.	Sig.
	Black Belly		Pelibuey					
Motilidad masal, %	95,25	a	91,25	a	2,16	4,62	0,2374	ns
Motilidad individual, %	4,75	a	4,50	a	0,27	11,68	0,5370	ns
Concentración, spz/ml	2540,50	a	2329,5	a	318,94	26,20	0,6564	ns
Células vivas/muertas, %	97,25	a	94,00	a	2,24	4,69	0,3451	ns
Morfología	95,35	a	94,90	a	0,60	1,25	0,6131	ns

E.E.: Error Estándar

C.V.: Coeficiente de Variación

aa: Letras iguales no existe diferencias significativas

ab: Letras distintas existe diferencias significativas ($P<0,05$).

Realizado por: Chunata Mantilla, Shirley 2019.

Encontrándose estos resultados dentro de los rangos aptos para su conservación pues, según Cueto et al., (2016), recomienda que para proceder al congelamiento de un eyaculado su motilidad masal debe ser igual o mayor de 3,5 pts, es decir $\geq 70\%$, sabiendo que 5 pts equivale al 100%.

Los resultados obtenidos en la presente investigación son similares a los registrados por López et al., (2016), quienes, en su investigación sobre el efecto de Factores Ambientales y Variación Individual en la Capacidad Reproductiva del carnero, determinaron el 92 % de motilidad masal para las muestras seminales frescas.

A diferencia de los resultados obtenidos por Velasco (2011), quien registró una motilidad masal de 85%, evaluada en semen fresco de Pelibuey, al realizar el estudio de la determinación de sub poblaciones espermáticas por motilidad en ovinos de pelo, siendo estos resultados inferiores a los de la presente investigación.

3.2.2. *Motilidad individual, (pts)*

La valoración microscópica de la variable motilidad individual, observada en las muestras seminales de los ovinos no registro diferencias estadísticas ($P>0,05$), existiendo diferencias numéricas entre las medias de los tratamientos, reportando el mayor valor en la raza Black Belly con 4,75 puntos como se muestra en la tabla, mientras que en las muestras de semen del carnero Pelibuey se obtuvo medias de 4,5 puntos, siendo este el menor valor.

Estos resultados son indicativos de que las muestras obtenidas presentaron una alta motilidad individual, ya que Cueto et al., (2016), manifiesta que la motilidad individual progresiva se estima como la velocidad de desplazamiento hacia adelante de los espermatozoides vivos en una escala subjetiva entre 0 y 5 (0, mínimo; 5, máximo).

Siendo estos resultados superiores a los reportados por Guerrero et al., (2009), quienes al evaluar el uso de diferentes dilutores en Crioconservación de Semen Ovino, en muestras de semen fresco del mes de abril y julio presentan valores $3,5 \pm 0,1$ puntos en carneros Black Belly.

Siendo similares a los resultados expresado por López et al., (2016), quien estudio del efecto de la Raza, Edad, y Época del año sobre la Calidad Reproductiva del Carnero, obteniendo resultados de 4,31 puntos para las muestras seminales frescas pertenecientes al macho de la raza Pelibuey, semoviente de la investigación.

A diferencia de Viteri (2015), quien en el estudio Aplicación de Técnicas de Biotecnología Reproductiva en Ovejas Mestizas determino una motilidad individual en semen fresco de 5 puntos en la raza Rambouillet y Poll Dorset, siendo esto resultados similares al presente estudio.

3.2.3. *Concentración espermática, spz/ml*

La concentración espermática, promedio por unidad de volumen (ml), de las muestras obtenidas en los ovinos no registro diferencias estadísticas ($P>0,05$), entre las medias de los tratamientos,

reportando en la raza Pelibuey una concentración espermática de $2329,5 \times 10^6$ spz/ml, mientras que en el ovino Black Belly para la misma variable se obtuvo $2540,5 \times 10^6$ spz/ml.

En relación a los resultados obtenidos Duran et al., (2008), menciona que la determinación de la concentración espermática es muy importante, ya que la relación en la dilución depende de ella, al mismo tiempo indica que el semen del carnero de buena calidad contiene entre 2,5 a 5,0 mil millones de espermatozoides/ml.

Estos resultados son similares a los obtenidos por Orellana (2009), quien al valorar la concentración espermática reportó valores de $2\,458,89 \times 10^6$ spz/ml $\pm 903,65$ en ovinos de la raza Black Belly. Al igual que López et al., (2014), quienes en muestras seminales frescas de los carneros Pelibuey obtuvieron una concentración espermática de $2964 \pm 103 \times 10^6$ spz/ml, y en los carneros Black Belly se determinaron una concentración de $3059 \pm 114 \times 10^6$.

Por otro lado, según el estudio de Características del Semen en Diferentes Razas de Ovinos, realizado por Avilés (2018), manifiesta que la concentración espermática en las muestras seminales del ovino Pelibuey reportó un promedio de $562,50 \pm 50 \times 10^6$ spz/ml, mientras que para el reproductor Black Belly, se registró una concentración espermática de $826,67 \pm 323,02 \times 10^6$ spz/ml, siendo estos resultados inferiores a los reportados en la presente investigación.

3.2.4. Células vivas-muertas, (%)

En la valoración microscópica del porcentaje de las células vivas en relación a las células espermáticas muertas, observadas en las muestras seminales de los ovinos no se registró diferencias estadísticas ($P > 0,05$), existiendo solo diferencias numéricas entre las medias de los tratamientos, identificando el mayor valor de 97,5 % en las muestras seminales provenientes del ovino Black Belly, a diferencia del 94 %, obtenido en las muestras de semen del reproductor Pelibuey. Con respecto al porcentaje de células muertas este reportó el 2,5% y 6% respectivamente.

Respecto a los resultados obtenidos Rodríguez, 2007 citado por Escudero 2015, indican que al congelar el semen debe existir un buen porcentaje de células vivas en relación a las células muertas, ya que solo alrededor del 50% de los espermatozoides mantienen su viabilidad luego de la descongelación.

Guerrero (2009), en la evaluación microscópica del semen en el cálculo del porcentaje de células vivas y muertas, reporta valores de $90,2 \pm 3,8$ % de células vivas y 9,8 % de células muertas en carneros Black Belly, al igual Avilés (2018), quien determino un porcentaje de células vivas y muertas de $75,24 \pm 9,44$ en muestras seminales del macho Pelibuey, en cambio en el Black Belly arrojó resultados de $92,45 \pm 2,35$, valores que son inferiores a los reportados en la presente investigación.

En el estudio de Orellana (2009) determino que en la valoración microscópica del semen en fresco la variable células vivas-muertas reporto datos de 80,19% espermatozoides vivos y 19,81% de células muertas, en la raza Black Belly, los cuales son inferiores con los del estudio. Por otro lado, Escudero (2015), en la investigación Preservación de Semen Ovino mediante Vitricación y Congelamiento Lento, Utilizando Diferentes Diluyentes, encontró $99,58 \pm 0,51$ en muestras seminales frescas de machos Corriedale, siendo estos superiores a los obtenidos en la investigación.

3.2.5. *Morfología, (%)*

En la presente investigación se valoró el porcentaje morfológico normal y anormal de los espermatozoides en las diferentes muestras tomadas, presentando promedios de 94,9% de espermatozoides normales y del 5,1% de espermatozoides anormales determinados de las muestras del semen del ovino Pelibuey (tabla 18-3), mientras que las muestras seminales de la raza Black Belly arrojó resultados de 95,35% de espermatozoides con estructura normal, determinando que 4, 65% de los espermatozoides son anormales, (tabla 5-3).

Tabla 5-3: Anormalidades encontradas en las muestras seminales.

Anormalidades Espermáticas	Black Belly	Pelibuey
Microcefalia	0,05	-
Cola		
Cola de látigo	0,9	1,1
Cola enrollada	1,6	1,4
Cola doblada	1,9	2,5
Sin cola	0,05	-
Cola corta	0,1	0,1
Total de anormalidades	4,6	5,1

Realizado por: Chunata Mantilla Shirley 2019.

En los resultados obtenidos en la presente investigación para la variable morfología no se registran diferencias estadísticas ($P>0,05$) entre las medias de los tratamientos, reportándose anomalías espermáticas como: microcefalia, colas de látigo, enrollada, doblada y sin cola.

Orellana (2009), considera normal los eyaculados de 5 – 9 % de anormales, ya que el porcentaje de espermatozoides vivos se considera alto y guarda relación con el movimiento progresivo.

Estos valores son inferiores a los indicados por Guerrero (2009), en su investigación en cuanto a la morfología reportó valores 98,2% de espermatozoides normales en muestras seminales de machos Black Belly con 1.8 ± 0.7 de anomalías. Siendo a su vez superiores a los Orellana (2009), quien en su estudio determinó 93,06% de espermatozoides normales y el 6,94% de espermatozoides con anomalías como macrocéfalos, doble cola y cola látigo.

La determinación del porcentaje de la morfología y anomalías según Castro et al., (2017), en su investigación de la Calidad del Semen Refrigerado de Carneros Assaf y Black Belly, determinó en muestras de semen fresco valores de $6.94 \% \pm 1.57$ de espermatozoides anormales y 93,06 % espermatozoides normales en machos Black Belly de 3,5 años de edad, valores que son similares a los reportados en la presente investigación.

3.3. Evaluación de las características seminales post-descongelamiento de los carneros Pelibuey y Black Belly frente a la utilización de dos diluyentes comerciales.

La finalidad de diluir el semen es aumentar el volumen del eyaculado y facilitar la preservación de la viabilidad espermática por un tiempo mayor. Un diluyente eficiente mantiene o mejora el medio que rodea al espermatozoide suministrándole energía y protección (Gordon, 1997 citado por Guerrero et al, 2009).

3.3.1. Motilidad masal, (%)

a. De acuerdo a la raza (Factor A)

Al analizar la variable porcentaje de motilidad masal post-descongelación de las pajuelas sometidas a la conservación con dos tipos de diluyentes comerciales, no se registraron diferencias

estadísticas entre las medias del factor A, reportando el mayor porcentaje para las pajuelas provenientes del carnero Black Belly con 13,75%, a diferencia del menor valor registrado por las dosis seminales del reproductor Pelibuey, con 11,67 %, como se indica en la tabla (tabla 6-3).

Tabla 6-3: Evaluación de las características microscópicas post descongelamiento de las dosis seminales pertenecientes a los carneros Pelibuey y Black Belly, con respecto al factor A (razas).

Variables	Raza				E.E.	Prob.	Sig.
	Factor A						
	Pelibuey		Black Belly				
M.m (%)	11,67	a	13,75	a	1,34	0,29	ns
M.i (pts)	1,17	b	1,38	a	0,07	0,045	*
V (%)	12,07	a	14,08	a	1,44	0,34	ns

M.m: Motilidad masal, (%)

M.i: Motilidad individual, (pts)

V: Viabilidad espermática (%).

E.E: Error estándar

Prob. >0,05: no existen diferencias estadísticas.

Prob. <0,05: existen diferencias estadísticas.

Prob. < 0,01: existen diferencias altamente significativas

Realizado por: Chunata Mantilla Shirley 2019.

b. De acuerdo a los diluyentes (Factor B)

El efecto de los diluyentes comerciales en la conservación seminal, no se reportó diferencias estadísticas ($P>0,05$), entre las medias del factor B, registrando para el diluyente Andromed valores de 12,29%, a comparación de diluyente seminal One Step para el que se obtuvo el 13,13 % de motilidad masal (tabla 7-3).

Tabla 7-3: Evaluación de las características microscópicas post descongelamiento de las dosis seminales pertenecientes a los carneros Pelibuey y Black Belly, en el efecto de dos diluyentes comerciales (factor B).

Variables	Diluyente				E.E.	Prob.	Sig.
	Factor B						
	Andromed		One Step				
M.m (%)	12,29	a	13,13	a	1,34	0,67	ns
M.i (pts)	1,21	a	1,33	a	0,07	0,20	ns
V (%)	12,34	a	13,81	a	1,44	0,48	ns

M.m: Motilidad masal, (%)

M.i: Motilidad individual, (pts)

V: Viabilidad espermática (%).

E.E: Error estándar

Prob. >0,05: no existen diferencias estadísticas.

Prob. <0,05: existen diferencias estadísticas.

Prob. < 0,01: existen diferencias altamente significativas

Realizado por: Chunata Mantilla Shirley 2019.

c. *De acuerdo a la interacción (Factor AxB)*

De acuerdo a la interacción factores A x B (razas ovinas y tipos de diluyentes comerciales) no se presentaron diferencias estadísticas ($P>0,05$), entre los tratamientos, pero si existieron diferencias numéricas, reportando el mayor porcentaje de motilidad masal del 15 % para el tratamiento A2B2, a diferencia del menor valor que se obtuvo en el tratamiento A1B2, con 11,25 %, como se indica en la tabla (21-3). Lo que nos lleva a deducir que no existió en el proceso de conservación seminal una relación directa entre las razas ovinas y los componentes que constituyen los diluyentes comerciales utilizados en la presente investigación, como se muestra en la tabla (8-3) y en el gráfico (2-3)

Tabla 8-3: Valoración post descongelamiento de las dosis seminales bajo el efecto de las razas (Pelibuey y Black Belly) y los diluyentes comerciales (Factores A x B).

Variables	Pelibuey				Black Belly				E.E.	Prob.
	Interacción (A x B)									
	Andromed		One Step		Andromed		One Step			
M.m (%)	12,08	a	11,25	a	12,50	a	15,00	a	1,90	0,40
M.i (pts)	1,17	a	1,17	a	1,25	a	1,50	a	0,09	0,20
V (%)	12.08	a	12.06	a	12.60	a	15.56	a	2.03	0.48

M.m: Motilidad masal, (%)

M.i: Motilidad individual, (pts)

V: Viabilidad espermática (%).

E.E: Error estándar

Prob. >0,05: no existen diferencias estadísticas.

Prob. <0,05: existen diferencias estadísticas.

Prob. < 0,01: existen diferencias altamente significativas

Realizado por: Chunata Mantilla Shirley 2019.

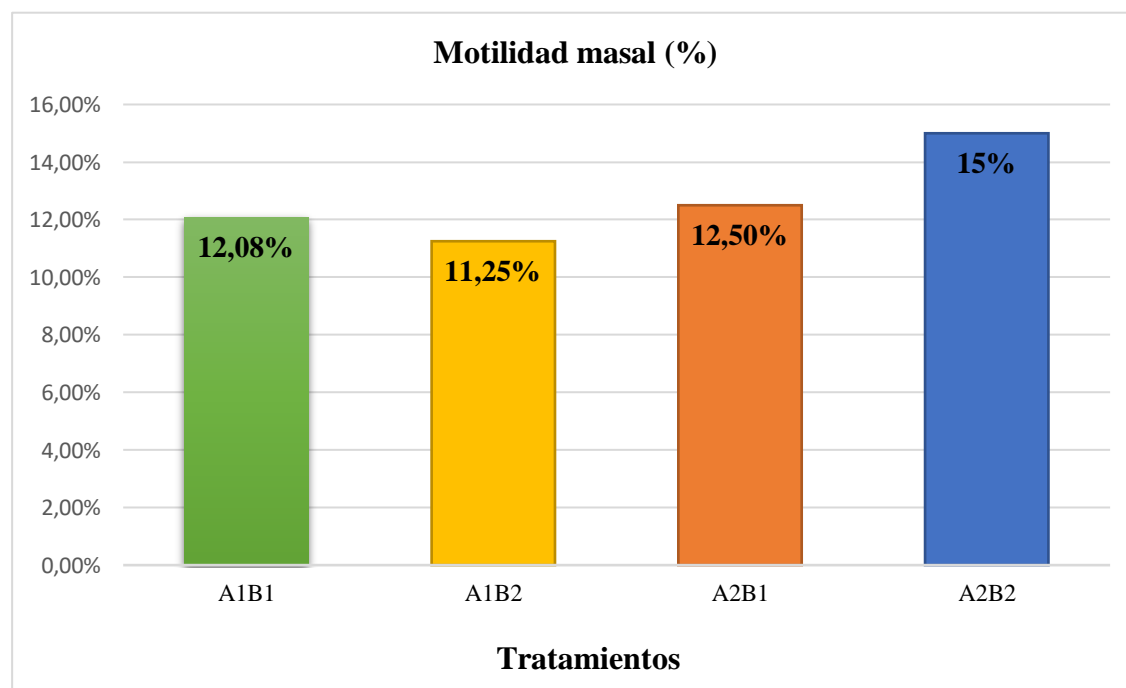


Gráfico 2-2: Comportamiento de la Motilidad masal (%) post-descongelación para la interacción raza (Black Belly y Pelibuey) por diluyentes comerciales (Andromed y One step).

Realizado por: Chunata Mantilla, Shirley 2019

Con respecto a los resultados obtenidos estos son superiores a los reportados por Escudero (2015), quien al realizar preservación de semen ovino mediante vitrificación y congelamiento lento, utilizando diferentes diluyentes comerciales, obtuvo 8,50 % de motilidad masal post descongelamiento al emplear el diluyente seminal Ovixcell y ejecutar un congelamiento lento en el procesamiento seminal.

Los resultados obtenidos son inferiores a los reportados por Gómez et al., (2018), quienes al investigar la Categorización de Criopreservación del Semen Ovino de Acuerdo a la Cinética Espermática a la descongelación, en ovinos Pelibuey y Black Belly, reportaron un 51, 68 % de motilidad masal post-descongelación en las dosis seminales.

3.3.2. *Motilidad individual, (pts)*

a. De acuerdo a la raza (Factor A)

En el análisis de la varianza correspondiente a la motilidad individual post-descongelamiento, se identificaron diferencias significativas ($P < 0,05$), entre las dosis seminales de las razas evaluadas, registrando la mejor valoración en las pajuelas derivadas del carnero Black Belly con 1,38 puntos, a comparación del valor obtenido en las dosis seminales de reproductor Pelibuey en el cual se registró 1,17 puntos.

b. De acuerdo al diluyente (Factor B)

Al analizar el factor B (diluyentes comerciales), no se registraron diferencias estadísticas con respecto a la motilidad, presentando la mayor valoración al utilizar el diluyente seminal One step con 1,33 puntos, a diferencia del 1, 21 puntos reportado por el diluyente comercial Andromed.

c. De acuerdo a la interacción (Factor AxB)

Al realizar el análisis de la interacción Factores A x B, perteneciente a la motilidad individual no se presentó diferencias estadísticas significativas ($P > 0,05$), obteniendo el rango más alto en el tratamiento A2B2 con 1,50 puntos a comparación de los tratamientos A1B1 y A1B2 con 1,17 puntos en los dos tratamientos, como se muestra en el gráfico (3-3).

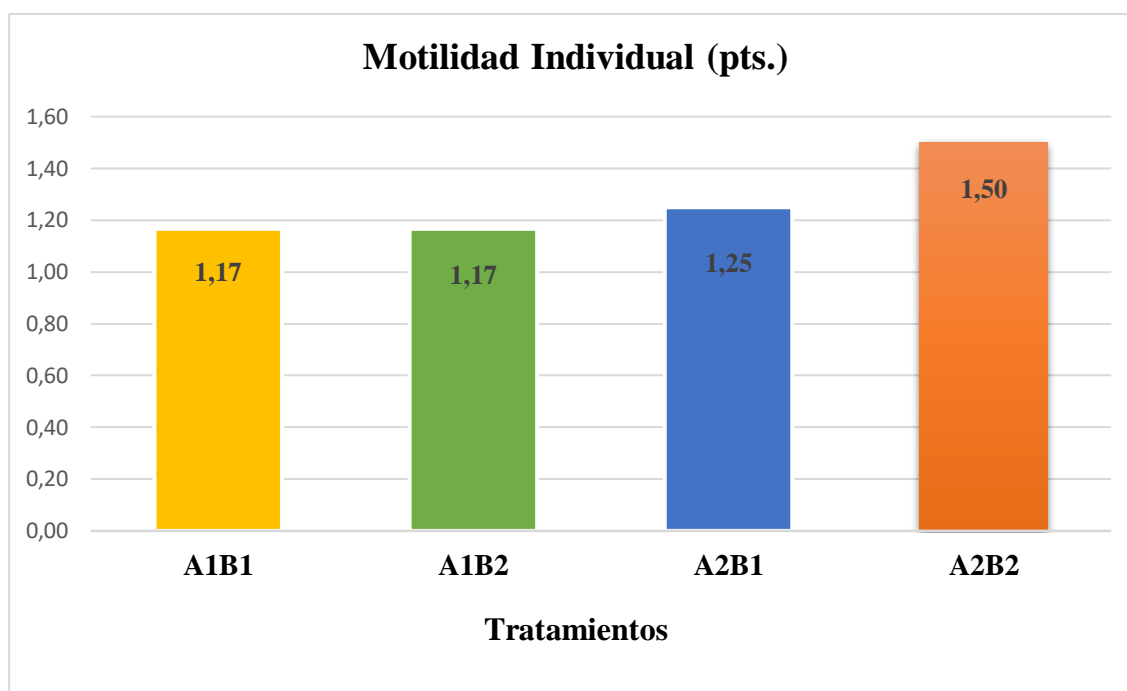


Gráfico 3-3: Comportamiento de la Motilidad individual (%) post-descongelación para la interacción raza (Black Belly y Pelibuey) por diluyentes comerciales (Andromed y One step).

Realizado por: Chunata Mantilla, Shirley 2019

Los valores registrados en la presente investigación son similares a los obtenidos por Cervera et al., (2013), quienes en su estudio del Efecto de la adición de un surfactante (Orvus Es Paste®) en el diluyente de congelación en ovinos Katahdin, reportaron una motilidad individual para el tratamiento TO (Triladyl® 20%, agua destilada 60%, yema de huevo 20%, con 0,5% de OEP), de 1,8 a la post- descongelación y para TT (sin OEP) 1 punto.

Por otro lado, Cabrera et al., (2011), en su investigación Efecto del dilutor tris y citrato con yema de huevo de codorniz sobre la viabilidad espermática en semen ovino congelado, en ovinos Black Belly registra una motilidad individual en el tratamiento 1 (TRIS), de $63,7\% \pm 2,7$ correspondiendo esta calificación de 3,18 puntos y para tratamiento 2 (CITRATO), de $58,1\% \pm 5,1$; equivalente a 2,9 puntos, siendo estos valores superiores a los reportados en la presente investigación.

En el mismo estudio se evaluó a la raza Assaf que presenta para el T1 (TRIS), una motilidad individual post- descongelación de $61,7\% \pm 6,5$; corresponde a 3 puntos y para el T2 (CITRATO) presento una motilidad individual de $55,7\% \pm 8,5$ que equivale a 2,7 puntos, por tal estos valores

son superiores a los obtenidos en la investigación, las mismas que pueden diferir por utilizar diferente protocolo de congelación y diferente diluyente.

Rodríguez et al., (2008) quienes en su estudio Capacitación espermática inducida por la conservación de semen de carnero diluido, refrigerado o congelado, en carneros Pelibuey y Black Belly, presento una motilidad individual promedio de 2,6 puntos.

3.3.3. Viabilidad espermática, (%)

a. De acuerdo a la raza (Factor A)

En cuanto a la variable de viabilidad espermática en la evaluación microscópica, no se registraron diferencias estadísticas entre las razas ovinas al post- descongelamiento de las pajuelas, reportándose el mayor valor de este parámetro en las dosis seminales del carnero Black Belly con 14,08 % de viabilidad espermática a comparación de los valores registrados por el semoviente de la raza Pelibuey, con 12,07%, en el análisis.

b. De acuerdo al diluyente (Factor B)

En el análisis del factor B (diluyentes comerciales), no se reportó diferencias estadísticas ($P>0,05$), obteniendo el mayor valor para el diluyente One Step con 13,81 % de viabilidad espermática post descongelación seminal, en comparación al menor valor el cual se registró con el diluyente Andromed con el que se obtuvo 12,34%.

c. De acuerdo a la interacción (Factor AxB)

La viabilidad espermática post-descongelación en relación a la interacción de las razas y diluyentes, no mostrò diferencias significativas a una ($P>0,05$), registrándose la mayor viabilidad espermática en el tratamiento A2B2 con 15,56%, y difiriendo numéricamente con A1B2 que obtuvo una viabilidad de 12,06%. Como se muestra en el gráfico (4-3).

Los resultados obtenidos en la presente investigación son inferiores a los de Gómez et al., (2018), quienes en su investigación categorización de la crio preservación del semen ovino de acuerdo a

la cinética espermática a la descongelación, en carneros (Black Belly y Pelibuey) crio preservados con Triladyl y yema de huevo, determino a las 24 horas de su conservación una viabilidad de $41,77 \% \pm 5,34$ post- descongelamiento.

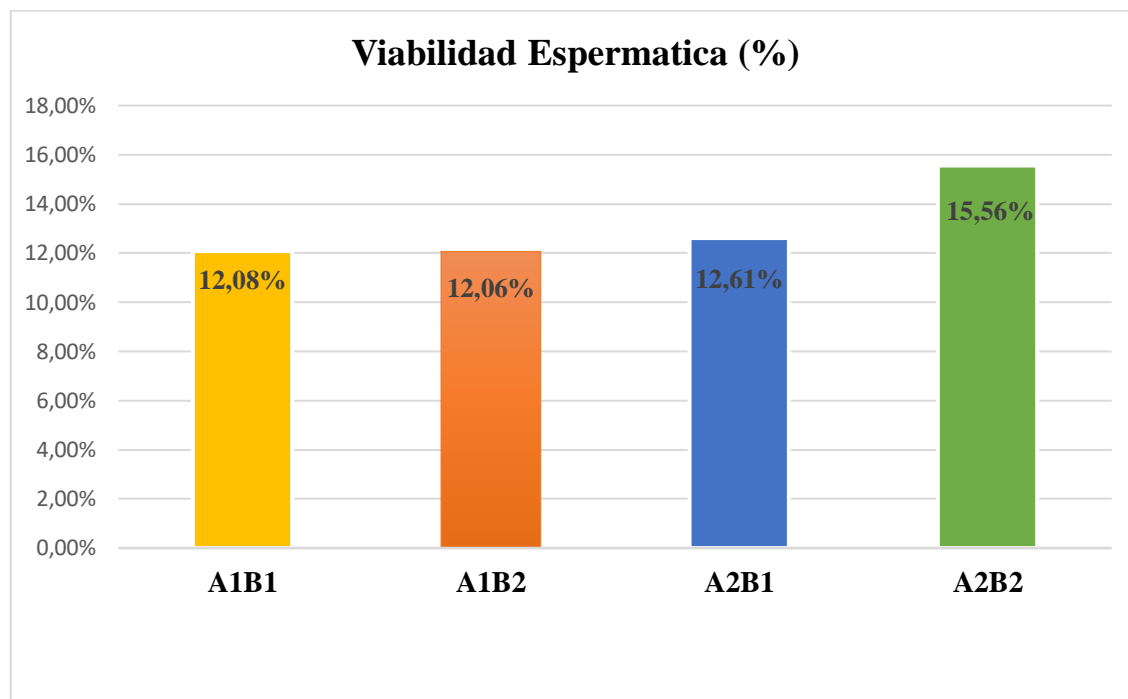


Gráfico 4-3: Comportamiento de la Viabilidad espermática (%) post-descongelación para la interacción raza (Black Belly y Pelibuey) por diluyentes comerciales (Andromed y One step)

Realizado por: Chunata Mantilla, Shirley 2019.

De la misma manera Cervera et al., (2013), quienes al adicionar un Surfactante (Orvus Es Paste) en el diluyente comercial de congelación Triladyl®, en ovinos Katahdin obtuvo una viabilidad espermática a los 17 días post-descongelación en el TO (20% Triladyl, agua destilada (60%), yema de huevo (20%), con 0,5% de OEP) una viabilidad de $37,31 \pm 1,27$ y para el TT sin OEP, obtuvo una viabilidad de $21,98 \% \pm 1,27$.

De la misma manera los datos obtenidos son superiores a los de Guerrero et al., (2009), quienes en su investigación de Uso de Dilutores Hipertónicos en la Criopreservación de Semen Ovino, en ovinos Black Belly con una edad de 2-3.5 años, se obtuvo una viabilidad espermática post-descongelación con el tratamiento 1 Dilutor Tris-Treolasa datos promedio de $34.4 \% \pm 6,6$; mientras que en el tratamiento 2 Dilutor Tris-Lactosa obtuvo $24,3 \% \pm 5,0$

Los resultados obtenidos en la presente investigación de acuerdo a cada variable en el post descongelamiento pueden deberse a varios factores entre los cuales manifestaremos la forma de extracción seminal, adaptación de los carneros al método de extracción, raza, condiciones de humedad y temperatura adversas en el proceso de conservación seminal, al igual que el efecto de los diluyentes comerciales utilizados.

3.4. Costo tratamiento

Al realizar la valoración del contenido seminal de dos razas ovinas tropicales y dos tipos de diluyentes para su conservación, desde el punto de vista económico se determinó el costo de inversión por dosis seminal reportando valores de \$ 2,21 USD, para el diluyente Andromed y \$ 2,18 USD para el diluyente One step, siendo estos datos temporales mismos que pueden variar, ya que están valorados en el tiempo y momento en que se realizó la investigación, como se muestra en la tabla (22-3).

Tabla 9-3: Evaluación económica de los tratamientos con la utilización de diluyentes comerciales Andromed y One Step.

Andromed				
Producto	Unidad	Cantidad	P. Unitario \$	P. Total \$
Nº animales		2		
Insumos				
Tubo centrifuga (14ml)	u	4	0,35	1,40
Tubo de microcentrifuga (2ml)	u	15	0,12	1,80
Pajuelas (0,5 ml)	u	72	0,11	7,92
Diluyente Andromed	ml	18	0,49	8,82
Nitrógeno líquido	kg	45	2,6	117
Alcohol polivinílico	g	15	0,16	2,40
Mano de obra		4	5	20
Total				159,34
Costo: pajuela/Tratamiento				2,21

One step				
Producto	Unidad	Cantidad	P. Unitario \$	P. Total \$
Nº animales		2		
Insumos				
Tubo centrifuga (14ml)	u	4	0,35	1,4
Tubo de microcentrifuga (2ml)	u	15	0,12	1,8
Huevos	u	4	0,25	1
Pajuelas (0,5 ml)	u	72	0,11	7,92
Diluyente One Step	ml	18	0,35	6,30
Nitrógeno líquido	kg	45	2,6	117
Alcohol polivinílico	g	13	0,16	2,08
Mano de obra		4	5	20
Total				157,5
Costo: pajuela/tratamiento				2,18

Realizado por: Chunata Mantilla Shirley 2019.

CONCLUSIONES

- Las características macroscópicas y microscópicas en semen fresco son apropiadas para cada raza, es importante destacar que el volumen del eyaculado que obtuvo el rango más alto fue del ovino Pelibuey con 1,83 ml en relación al volumen de Black Belly 1,43 ml, obteniendo un mayor número de dosis seminales con una concentración de 200×10^6 espermatozoides por pajuelas de 0,5 ml.
- Al evaluar las variables microscópicas en semen fresco la que presentó una mejor calidad seminal fue el carnero Black Belly con una motilidad masal (95,25%), concentración espermática ($2540,50 \times 10^6$ spz/ml) y un porcentaje de células vivas-muertas (97,25%), seguido del carnero Pelibuey con una motilidad masal (91,25%), concentración espermática ($2329,50 \times 10^6$ spz/ml)), células vivas-muertas (94%).
- Se comprobó que en la motilidad individual al momento de la post-descongelación esta no fue afectada por los dos diluyentes, pero si existió diferencias significativas entre las razas obteniéndose un mayor valor para el carnero Black Belly con 1,83 pts, por lo que, es más eficiente para congelar en relación al Pelibuey con 1,17 pts. Cabe recalcar que si existe diferencias numéricas entre los tratamientos teniendo al tratamiento A2B2 con el rango más alto permitiéndose obtener una mejor calidad del semen congelado.
- En la evaluación económica obtenemos que el mejor tratamiento es al emplear el diluyente comercial One Step donde se obtuvo un valor de 2,18 USD por dosis seminal, seguido de la utilización del diluyente Andromed con 2,21 USD por cada pajuela.

RECOMENDACIONES

- Establecer o adecuar un cuarto frío que permita el control de los factores externos como la temperatura ambiental y la humedad que impiden que se lleve un control preciso de las temperaturas en la etapa refrigeración - congelación donde pueden existir pérdidas en la evaluación post-descongelación.
- Compartir la información obtenida de la zona subtropical con asociaciones de ovinocultores en razas tropicales dedicados a programas de mejoramiento genético con la finalidad de aprovechar la calidad seminal y difundir la I.A a nivel nacional, que se enfoquen en la elaboración y comprobación de las pajuelas.
- Efectuar investigaciones posteriores de biotecnologías reproductivas utilizando los reproductores de la raza Pelibuey y Black Belly que tras la evaluación macroscópica y microscópica del semen este nos indica un buen contenido seminal que puede ser aprovechado en programas de reproducción que permitan realizar procesos de mejoramiento genético.

BIBLIOGRAFÍA

AGUIRE, Virgilio. Efecto de la Estacionalidad, Frecuencia de Colección y Jerarquía en Algunas Variables Reproductivas de Carneros Pelibuey (*Ovis Aries*). [en línea]. (**Trabajo de titulación**), (**Posgrado**). Universidad de Colima; Programa Doctorado En Ciencias Pecuarias, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Colima- México. 2004. pp. 10-20. [Consulta 05 de septiembre del 2019]. <http://bvirtual.ucol.mx/consultaxcategoria.php?categoria=3&id=5546>.

AVILÉS Fabián. Características del Semen en Diferentes Razas de Ovinos, a Principios de Otoño. [en línea]. (**Trabajo de titulación**), (**Ingeniería**). Universidad Autónoma de Baja California Sur; Área de Conocimiento de Ciencias Agropecuarias; Departamento Académico de Ciencia Animal y Conservación del Hábitat. La Paz-Baja California Sur. 2018. pp.6-30. [Consulta 12 de octubre del 2019]. <http://biblio.uabcs.mx/tesis/te4068.pdf>

BARRAGÁN Idelmar. Evaluación del Efecto Crioprotector de Diferentes Fuentes de Antioxidantes en El Semen Bovino. [en línea]. (**Trabajo de titulación**), (**Ingeniero Zootecnista**). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; Facultad de Ciencias Pecuarias; Escuela de Ingeniería Zootécnica. Riobamba- Ecuador. 2017. pp. 11-20. [Consulta 13 de octubre del 2019]. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/7153/1/17T1470.pdf>

CABRERA Próspero, AYULO Arturo y PANTOJA César. Efecto del dilutor tris y citrato con yema de huevo de cordorniz sobre la viabilidad espermática en semen ovino congelado en pajillas. *Rev. investig. vet. Perú* [en línea]. Lima-Perú, 2011, Vol.22.Nº2. [Consulta 14 de noviembre del 2019]. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1609-91172011000200004&script=sci_arttext&lng=e

CABRERA Próspero, ORELLANA Javier y PANTOJA César. Efecto de dos dilutores sobre la motilidad e integridad de la membrana espermática en semen congelado de ovinos. *Rev. investig. vet. Perú* [en línea]. Lima-Perú, 2010, Vol. 21. Nº2. [Consulta 12 de noviembre del 2019]. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1609-91172010000200002&script=sci_arttext

CASTILLO Luis. Adición de Metil-B-Ciclodextrina Cargada de Colesterol en la Criopreservación de Semen De Carnero. [en línea]. (**Trabajo de titulación**), (**Maestría en Reproducción Animal**). Universidad Nacional Agraria La Molina; Escuela De Posgrado; Maestría En Producción Animal. Lima- Perú. 2017. pp. 12-13. [Consulta 26 de septiembre del 2019].

2019]. <http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/3165/L53-C378-T.pdf?sequence=4&isAllowed=y>

CASTRO Jorge, CHIRINOS Doris y ORELLANA Javier. Calidad del semen refrigerado de carneros Assaf y Blackbelly. *Rev. investig. vet. Perú* [en línea]. Lima-Perú, 2017. Vol. 28. N°3. [Consulta 12 de octubre del 2019]. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1609-91172017000300032&script=sci_arttext

CERVERA Paul, COB Leandro, RIVERA Juan, DOMÍNGUEZ Álvaro, BAEZA Juan y RAMÓN Julio. Efecto de la adición de un surfactante (Orvus es Paste®) en el diluyente de congelación sobre la calidad y la capacidad fecundante del semen ovino de pelo (*Ovis aries*) congelado. *Revista Científica* [en línea]. Maracaibo- Venezuela. 2013, Vol 23. N° 1. pp.48-53. [Consultar: 13 de noviembre del 2019]. <https://www.redalyc.org/pdf/959/95925465002.pdf>

COLOMA Renato. Evaluación del Comportamiento Forrajero de la *Brachiaria Decumbens* (Pasto Dalis) con la Aplicación de Diferentes Niveles de Micorrizas y una Base Estándar de Abono Orgánico. [en línea]. (**Trabajo de titulación**), (**Ingeniero Zootecnista**). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; Facultad de Ciencias Pecuarias; Carrera de Ingeniería Zootécnica. Riobamba-Ecuador. 2015.p. 29. [Consulta 05 de septiembre del 2019]. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/5195/1/17T1280.pdf>

CUETO Marcela, GIBBONS Alejandro, BRUNO María Y FERNÁNDEZ Jimena. *Manual de Obtención, Procesamiento y Conservación del Semen Ovino*. INTA Ediciones, 2ª. ed. Buenos Aires - Argentina. [en línea], 2016.pp., 1-21.[Consulta 05 de Septiembre del 2019] https://inta.gob.ar/sites/default/files/inta-manual_de_semen_ovino_2da_edicion.pdf

DELGADO Johana. Caracterización Morfológica de los Testículos en Bovinos de la Raza Brown Swiss de 9 – 24 Meses de Edad en las Parroquias Tena, Puerto Napo y Misahualli, Cantón Tena de la Provincia De Napo. [en línea]. (**Trabajo de titulación**), (**Médico Veterinario y Zootecnista**). Universidad Técnica de Ambato; Facultad de Ciencias Agropecuarias; Medicina Veterinaria y Zootecnia. Cevallos-Ecuador. 2015. pp.19-29. [Consulta 05 de septiembre del 2019]. <http://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/23757/1/Tesis%2027%20Medicina%20Veterinaria%20y%20Zootecnia%20-CD%20317.pdf>

DURÁN Felipe, HERNÁNDEZ Hugo, LATORRE Daniel. *Manual de explotación y reproducción en ovejas y borregos*. 1º ed. Bogotá- Colombia. Grupo Latino Editores Ltda, 2008. ISBN 978-958-96086-7-8, pp.245-302.

ECUADOR; INEC. *III Censo Nacional Agropecuario*. [en línea]. Quito- Ecuador. 2000, p. 22 [Consulta 12 de noviembre del 2019]. https://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Estadisticas_agropecuarias/CNA/Tomo_CNA.pdf

ECUADOR; INEC. *Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua*. [en línea]. Quito- Ecuador. 2018, p.25 [Consulta 12 de noviembre del 2019]. https://www.ecuadorencifras.gob.ec/estadisticas-agropecuarias-2/?fbclid=IwAR2KUWTTA2WdURPv_kgefV-Hr2xvi3GOmHZvnJpwW0Gjk_NIRrfRuihsDjc

ESCUADERO Jorge. “Preservación de Semen Ovino Mediante Vitrificación y Congelamiento Lento, Utilizando Diferentes Diluyentes Comerciales”. [en línea]. (**Trabajo de titulación**), (**Ingeniero Zootecnista**). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; Facultad de Ciencias Pecuarias; Carrera de Ingeniería Zootécnica. Riobamba-Ecuador. 2015. pp. 42-53. [Consulta 10 de noviembre del 2019]. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/5256/1/Trabajo%20de%20Titulaci%c3%b3n.pdf>

ESPITIA Amado, MONTES Donicer, LARA Diego. Evaluación del Desarrollo Testicular y Medidas Morfométricas en Ovinos de Pelo Colombiano. *Agron. Mesoam* [online]. Bogotá-Colombia, 2018. Vol. 29. N°.1, pp. 175-185. [Consulta: 06 de Septiembre del 2019]. <http://dx.doi.org/10.15517/ma.v29i1.27550>.

ESPITIA, Amado, MONTES Donicer, HERNANDEZ Enelida y SFEIR Hernando “Circunferencia Escrotal y Parámetros Morfométricos en Machos Bubalus Bubalis de la Raza Murrah”. *Revista Colombiana Ciencia Animal* [en línea], Bogotá-Colombia, 2017. Vol. 9. N°.1, pp. 73-80. ISSN on line 2027-4297. [Consulta 05 de septiembre del 2019]. <http://www.scielo.org.co/pdf/recia/v9n1/2027-4297-recia-9-01-00073.pdf>

FELJOO Ángel. Valoración Económica de la Producción de Ovinos Pelibuey y Black Belly y las Perspectivas de su Desarrollo en el Mercado del Cantón Pastaza. [en línea]. (**Trabajo de titulación**), (**Maestría en Economía y Administración Agrícola**). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; Instituto de Posgrado y Educación Continua de la ESPOCH. Riobamba- Ecuador.

2018. pp. 13-16. [Consultar 20 de septiembre 2019].
<http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/9052/1/20T01081.pdf>

FERNÁNDEZ Antonio. Células de Sertoli y la Barrera Hematotesticular. [Blog]. [Consulta 04 de noviembre del 2019]. <https://www.revistaciencias.com/celulas-de-sertoli-barrera-hematotesticular/>

FUNDACION CHILE. *Manual de Producción Ovina para Extensionistas*. INDAP [en línea], 2008. pp., 32-50. [Consulta: 08 de septiembre del 2019]. <https://www.indap.gob.cl/docs/default-source/default-document-library/manual-de-produccion-ovina-para-extensionistas.pdf?sfvrsn=0>

GÓMEZ J.C, ESTRADA E, CUICAS R, ÁVILA B y SEGURA J.C. Categorización de la Criopreservación del Semen Ovino de Acuerdo a La Cinética Espermática A la Descongelación. *Avances de la Investigación Sobre Producción Animal y Seguridad Alimentaria en México*. [en línea]. Ciudad de México- México, 2018. pp.359-352. [Consulta: 08 de septiembre del 2019]. https://www.researchgate.net/profile/Fernando_Casanova_Lugo/publication/325807244_Avances_de_la_investigacion_sobre_produccion_animal_y_seguridad_alimentaria_en_Mexico/links/5b578a9e0f7e9bc79a609bc8/Avances-de-la-investigacion-sobre-produccion-animal-y-seguridad-alimentaria-en-Mexico.pdf#page=367

GÓMEZ Carlos. “Evaluación de la Efectividad de un Electroeyaculador Experimental Comparado a Uno de Marca Comercial en Ovinos”. [en línea]. (**Trabajo de titulación**), (**Médico Veterinario y Zootecnista**). Universidad Central del Ecuador; Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia; Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Quito-Ecuador. 2013. pp.14-19. [Consulta: 08 de septiembre del 2019]. <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/4292/1/T-UCE-0014-49.pdf>

GUERRERO Hernán, HUANCA Wilfrido, RAYMUNDO Fernando, HUERTA Sandra y RAMOS Daphne. Uso De Dilutores Hipertónicos en la Criopreservación de Semen Ovino. *Rev Inv Vet Perú* [en línea]. Lima-Perú, 2009. Vol. 20. N°.1, pp. 41-46. [Consulta: 10 de noviembre del 2019]. <http://www.scielo.org.pe/pdf/rivep/v20n1/a07v20n1.pdf>

LOPÉZ Aké, VILLANUEVA N.Y y VILLANUEVA J.R. Aké. Efecto de la Raza, Edad y Época Sobre la Capacidad Reproductiva del Carnero. *Avances de la investigación sobre producción de ovinos de pelo en México*. [en línea]. Ciudad de México- México, 2014. Pp. 7-14.

[Consulta: 10 de noviembre del 2019].
<https://s3.amazonaws.com/academia.edu.documents/55037451/2017>

MANCHENO Andrés. *Protocolo de congelación de semen ovino*. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; Facultad de Ciencias Pecuarias. Carrera de Zootecnia. Laboratorio de Producción Animal e Inseminación Artificial. [entrevista].

NAVARRA; ITGGANADERO. *Preparación para la cubrición*. [en línea]. Boletín informativo ovino. N° 90. Navarra- España. 2007. pp. 1-6. [Consulta: 21 de septiembre del 2019].
<https://www.intiasa.es/repositorio/images/docs/III-OVINO-mayo-07.pdf>

ORELLANA Javier. Características Seminales E Integridad de la Membrana Espermática Post Refrigeración en Carneros BlackBelly y Assaf del Banco Nacional de Semen – La Molina. [en línea]. (Trabajo de titulación), (Ingeniero Zootecnista). Universidad Nacional del Centro del Perú; Facultad de Zootecnia. Huancayo-Perú. 2009. pp.51-54. [Consulta 13 de noviembre del 2019].
<http://repositorio.uncp.edu.pe/bitstream/handle/UNCP/2934/Orellana%20Chirinos.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

ORIHUELA Agustín. La Conducta Sexual del Carnero. Revisión. *Rev. Mex. De Cienc. Pecuarias* [en línea]. Ciudad de México-México, 2014. Vol. 5. N°.1, pp.148-183. ISSN 2448-6698. [Consulta 11 de octubre del 2019].
http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-11242014000100004

PARDO Laura. El Testículo: Estructura, Función y Patología Testicular Más Frecuente. [en línea]. (Trabajo fin de grado), (Grado en Medicina). Universidad de Cantabria; Facultad de Medicina; Grado en Medicina. Santander. 2017. Pp. 8-12. [Consulta 24 de septiembre del 2019].
<https://repositorio.unican.es/xmlui/bitstream/handle/10902/11694/Pardo%20Gambarte%20Laura.pdf?sequence=4>

PEÑA Luis. Producción Ovina. *Manual de producción ovina*. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; Facultad de Ciencias Pecuarias; Carrera de Ing. en Zootecnia.; 1ª.ed. Riobamba-Ecuador. Luis Peña. 2018. pp. 1-13.

RAMÍREZ Camilo, RUGELES Clara, DOMINGOS José y VERGARA Oscar. Relación Entre Biometría Testicular y Circunferencia Escrotal en Toretas de la Raza Nelore en Brasil.

Revista Científica [en línea], 2016, Brasilia- Brasil, 2016. Vol. 26. N°.1, pp. 49-54. [Consulta 11 de septiembre del 2019]. <https://www.redalyc.org/pdf/959/95944832009.pdf>

RODRÍGUEZ Felipe, ÁVILA Carlos, ANCHONDO Alfredo, SÁNCHEZ Blanca y JIMÉNEZ Jorge. Capacitación espermática inducida por la conservación de semen de carnero diluido, refrigerado o congelado. *Agrociencia*. [en línea]. Ciudad de México-México, 2008. Vol. 42. N°.4. [Consulta 14 de noviembre del 2019]. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-31952008000400002

RODRÍGUEZ Luis, ÁLVAREZ Mercedes, y PÉREZ Juan. *Curso Teórico-Práctico de Reproducción e Inseminación Artificial en Ganado Ovino y Caprino*. [en línea]. León, 2016, p.6. [Consulta 14 de octubre del 2019]. https://www.oviespana.com/images/imagenes/empresas/assaf/assaf_cursos/assaf_curso_13-4-16/assaf_curso_13-4-16_2/bases_fisiologicas_ovino_caprino.pdf

RÚA Clara. *Manuel Técnico para la Producción de Carne Ovina Utilizando Buenas Prácticas Ganaderas*. ASOOVINOS. [en línea]. Medellín-Colombia, 2015, pp.,10-19. [Consulta 11 de octubre del 2019]. <https://es.scribd.com/document/360285904/MANUAL-OVINOCAPRINO-0-pdf>

RUIZ Luis, SANDOVAL Rocío y SANTIANI Alexei. Evaluación de la Calidad Espermática del Semen Ovino Posdescongelación al Emplear Dos Fuentes Energéticas y Dos Crioprotectores. *Rev Inv Vet Perú* [en línea]. Lima-Perú, 2015. Vol. 26. N°1, pp.49-56. [Consulta 25 De octubre del 2019]. <http://www.scielo.org.pe/pdf/rivep/v26n1/a07v26n1.pdf>

SÁENZ Alcides. *Ovinos y Caprinos*. [en línea]. Managua-Nicaragua 2007. pp.,13-14. [Consulta 12 de septiembre del 2019]. http://repositorio.una.edu.ni/2442/1/nl01s127o.pdf?fbclid=IwAR1bW3JPpui2LVw6DBMiT9tJNp2FVNef3mSkkZgDJapvfxlytoUjQSIlN_I

SANDOVAL Rocío. Criopreservación de semen ovino empleando diferentes dilutores y combinaciones de agentes crioprotectores permeantes y no permeantes. [en línea]. **(Trabajo de titulación), (Médico Veterinario y Zootecnista)**. Universidad Nacional Mayor de San Marcos; Facultad de Medicina Veterinaria; Escuela Académico Profesional de Medicina Veterinaria. Lima-Perú. 2005. pp. 4-27. [Consulta 02 de octubre del 2019]. http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/674/Sandoval_mr.pdf?sequence=1&isAllowed=y

SIMONETTI, Laura, LYNCH Gloria. Y MCCORMICK Mercedes. Aspectos reproductivos de los carneros. *Revista de Divulgación Técnica Agropecuaria, Agroindustrial y Ambiental Facultad de Ciencias Agrarias*. [en línea]. Buenos Aires – Argentina, 2014. Vol. 1. N°.1, pp. 15-20. [Consulta 08 de octubre del 2019]. <http://revistafcaunlz.gramaweb.com.ar/wp-content/uploads/2014/07/aspectos-reproductivos.pdf>.

TAPIA Lourdes. “Valoración seminal en ovinos de raza corriedale y mestizos en la parroquia Cochapamba del cantón Saquisilí”. [en línea]. (**Trabajo de titulación**), (**Médico Veterinario Zootecnista**). Universidad Técnica de Cotopaxi; Unidad Académica de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales; Carrera de Medicina Veterinaria. Latacunga- Ecuador. 2014. pp 28-48. [Consulta 17 de noviembre del 2019]. <http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/4182/1/UTC-TC-000871.pdf>

VALDEZ Diego. “Efecto del Dodecil Sulfato Iónico Adicionado a un Diluyente Libre de Yema de Huevo Sobre la Calidad Del Semen Ovino Congelado”. [en línea]. (**Trabajo de titulación**), (**Maestría en Reproducción Animal**). Universidad de Cuenca; Facultad de Ciencias Agropecuarias; Centro de Postgrado. Cuenca-Ecuador. 2013. pp.8-36. [Consulta 20 de octubre del 2019]. <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/500/1/Tesis.pdf>

VELASCO Luis. Determinación de sub poblaciones espermáticas por motilidad en ovinos de pelo. [en línea]. (**Trabajo de titulación**), (**Ingeniero Agrónomo Zootecnista**). Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro”; Unidad Saltillo; División Ciencia Animal; Departamento de Producción Animal. Coahuila- México. 2011. pp.41-42. [Consulta 13 de noviembre del 2019]. [file:///C:/Users/PC/Downloads/T18911%20VELASCO%20CRUZ,%20%20%20%20%20%20%20%20%20%20LUIS%20FELIPE%20%20%20%20TESIS%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/PC/Downloads/T18911%20VELASCO%20CRUZ,%20%20%20%20%20%20%20%20%20%20LUIS%20FELIPE%20%20%20%20TESIS%20(1).pdf)

VITERI William. “Aplicación de Técnicas de Biotecnología Reproductiva en la Sincronización de Estro e Inseminación Artificial en Ovinas Mestizas”. [en línea]. (**Trabajo de titulación**), (**Ingeniero Zootecnista**). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; Facultad de Ciencias Pecuarias; Carrera de Ingeniería Zootécnica. Riobamba- Ecuador. 2015. pp. 4-63. [Consulta 20 de noviembre 2019]. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/5249/1/TESIS%20FELIP%20VITERI.pdf>

ANEXOS

Anexo 1. Motilidad masal % post descongelación en comparación con los dos diluyentes comerciales (Andromed y One step) en la conservación del semen en la Estación Experimental Pastaza

Genética	Diluyente	Extracciones			
		I	II	III	IV
Pelibuey	Andromed	20,00	6,67	13,33	8,33
Pelibuey	One Step	13,33	11,67	13,33	6,67
Black Belly	Andromed	13,33	13,33	15,00	8,33
Black Belly	One Step	13,33	13,33	16,67	16,67

Realizado por: Chunata Mantilla , Shirley 2019

ADEVA

F. Var	Gl	S. Cuad.	C. Medio	Fisher	P. Fisher
Total	15	204,86			
Genética	1	17,36	17,36	1,20	0,29
Diluyente	1	2,78	2,78	0,19	0,67
Int AB	1	11,11	11,11	0,77	0,40
Error	12	173,61	14,47		
CV %			29,93		
Media			12,71		

Realizado por: Chunata Mantilla , Shirley 2019

Separación de medias según Tukey (P<0,05)

Genética	Media	Grupo
Pelibuey	11,67	a
Black Belly	13,75	a

Diluyente	Media	Grupo
Andromed	12,29	a
One Step	13,13	a

Int AB	Media	Grupo
A1B1	12,08	a
A1B2	11,25	a
A2B1	12,50	a
A2B2	15,00	a

Realizado por: Chunata Mantilla , Shirley 2019

Anexo 2. Motilidad individual (pts) post descongelación en comparación con los dos diluyentes comerciales (Andromed y One step) en la conservación del semen en la Estación Experimental Pastaza.

Genética	Diluyente	N° Extracciones			
		I	II	III	IV
Pelibuey	Andromed	1,33	1,00	1,33	1,00
Pelibuey	One Step	1,00	1,33	1,33	1,00
Black Belly	Andromed	1,33	1,33	1,33	1,00
Black Belly	One Step	1,33	1,33	1,67	1,67

Realizado por: Chunata Mantilla, Shirley 2019

ADEVA

F. Var	gl	S. Cuad.	C. Medio	Fisher	P. fisher
Total	15	0,72			
Genética	1	0,17	0,17	5,00	0,05
Diluyente	1	0,06	0,06	1,80	0,20
Int AB	1	0,06	0,06	1,80	0,20
Error	12	0,42	0,03		
CV %			14,66		
Media			1,27		

Realizado por: Chunata Mantilla, Shirley 2019

Separación de medias según Tukey (P<0,05)

Genética	Media	Grupo
Pelibuey	1,17	b
Black Belly	1,38	a

Diluyente	Media	Grupo
Andromed	1,21	a
One Step	1,33	a

Int AB	Media	Grupo
A1B1	1,17	a
A1B2	1,17	a
A2B1	1,25	a
A2B2	1,50	a

Realizado por: Chunata Mantilla, Shirley 2019

Anexo 3. Viabilidad espermática (%) post descongelación en comparación con los dos diluyentes comerciales (Andromed y One step) en la conservación del semen en la Estación Experimental Pastaza.

Genética	Diluyente	N° Extracciones			
		I	II	III	IV
Pelibuey	Andromed	19,83	8,25	12,58	7,67
Pelibuey	One Step	17,17	12,33	12,17	6,58
Black Belly	Andromed	16,17	12,83	13,50	7,92
Black Belly	One Step	15,58	13,00	17,83	15,83

Realizado por: Chunata Mantilla, Shirley 2019

ADEVA

F. Var	gl	S. Cuad.	C. Medio	Fisher	P. fisher
Total	15	231,66			
Genética	1	16,17	16,17	0,98	0,34
Diluyente	1	8,63	8,63	0,52	0,48
Int AB	1	8,88	8,88	0,54	0,48
Error	12	197,99	16,50		
CV %			31,06		
Media			13,08		

Realizado por: Chunata Mantilla , Shirley 2019

Separación de medias según Tukey (P<0,05)

Genética	Media	Grupo
Pelibuey	12,07	a
Black Belly	14,08	a

Diluyente	Media	Grupo
Andromed	12,34	a
One Step	13,81	a

Int AB	Media	Grupo
A1B1	12,08	a
A1B2	12,06	a
A2B1	12,60	a
A2B2	15,56	a

Realizado por: Chunata Mantilla , Shirley 2019

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
DIRECCIÓN DE BIBLIOTECAS Y RECURSOS PARA
EL APRENDIZAJE Y LA INVESTIGACIÓN
UNIDAD DE PROCESOS TÉCNICOS
REVISIÓN DE NORMAS TÉCNICAS, RESUMEN Y BIBLIOGRAFÍA

Fecha de entrega: 09 de enero de 2020

INFORMACIÓN DEL AUTOR/A (S)
Nombres – Apellidos: Shirley Vanessa Chunata Mantilla
INFORMACIÓN INSTITUCIONAL
Facultad: Ciencias Pecuarias
Carrera: Ingeniería Zootécnica
Título a optar: Ingeniera Zootecnista
f. Analista de bibliotecas responsable: Ing. Rafael Inty Salto Hidalgo